

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Mit Hilfe von Infrarot-Kameras wird das Geschehen in Steinkauz-Nistkästen aufgezeichnet und das Videomaterial anschließend ausgewertet. Von Interesse ist insbesondere das Fütterungssystem, wobei hier die Ermittlung von Faktoren, die zu Konkurrenz zwischen den Jungen eines Nestes führen können, im Vordergrund steht. Daneben soll auch das Nahrungsspektrum untersucht werden. Weiters werden die Aktivitäten der Tiere im Tagesverlauf beobachtet. Um Informationen über den Entwicklungszustand der Jungen zu erhalten, werden diese kurz vor dem Ausfliegen vermessen und beringt. Zusätzlich werden sie mit einem Sender ausgestattet, um eine Ortung mittels Telemetrie zu ermöglichen und so den Verbleib der Jungen nach dem Ausfliegen verfolgen zu können.

zu erwartender Nutzen: Ziel des Projektes ist, das Wissen über die Brutbiologie und die Ansprüche von Steinkäuzen zu verbessern und somit einen wichtigen Beitrag zum zukünftigen Schutz und Erhalt dieser bedrohten Tierart liefern zu können.

zu erwartender Schaden: Durch die Beobachtung mit Kameras und die Ortung mittels Telemetrie ist kein Schaden für die Tiere zu erwarten. Vermessung, Beringung und Besenderung von Vögeln gehört zu den Standardverfahren in der Ornithologie. Die Vögel können dadurch gestresst werden, allerdings ist bei Durchführung der Maßnahmen durch erfahrenen Beringer aber höchstens ein geringer Belastungsgrad zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Zur Durchführung der Studie werden 15 Steinkauz-Nistkästen ausgewählt. Daraus ergibt sich eine Individuenanzahl von 30 Altvögeln sowie deren Brut (durchschnittlich 3-6 Junge pro Nest).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Es gibt gegenwärtig noch keine Studie, die sich mit den oben genannten Fragestellungen auseinandergesetzt hat. Die Stichprobengröße ist relativ klein und beschränkt sich auf ein zur sinnvollen Durchführung der Studie notwendiges Minimum.

Verminderung: Durch die Verwendung von Kameras können die Tiere ohne nennenswerte Störung beobachtet werden. Lediglich zur Beringung und zur Vermessung müssen die Jungen für kurze Zeit aus ihrem Nistkasten entnommen werden.

Verfeinerung: Die Kameras werden bereits vor der Brutperiode und nur, wenn kein Altvogel in der Nähe ist, installiert. Dadurch werden negative Auswirkungen auf das Brutgeschehen vermieden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse des Projektes sollen bessere Einblicke in die Entstehung der Ursachen für Herzinfarkt und Schlaganfall, welche zu neuen therapeutischen Ansätzen führen, liefern.

zu erwartender Schaden: Bei den geplanten weiterführenden Versuchen handelt es sich um Tierversuche ohne operative Eingriffe, es werden Zellen des Knochenmarks durch intravenöse Injektionen zwischen den transgenen Mauslinien übertragen. Dies kommt einem Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis gleich. Im Detail sollen hierbei genetisch modifizierte Mäuse hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen unter Ausschaltung bestimmter Blutzellen (Neutrophilendepletion) untersucht werden. Durch die Durchführung dieser gezielt ausgerichteten Versuche soll die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose besser verstanden werden, wodurch in Zukunft neue Vorbeugungs- und Therapieansätze entwickelt werden könnten.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bzw. die *in vivo* Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung (Funktion des Fehlens eines Gens und Auswirkungen auf die Bildung atherosklerotischer Plaques) ist nur *in vivo* zu beantworten. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung (Le. "enriched environment") helfen den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und Messungen, etc. zu minimieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel: Das Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines nicht-invasiven Testsystems zur Bestimmung der Östrogen- und Progesteronkonzentration in Milch, Harn, Kot und Speichel bei Kühen. Das Testsystem soll physiologische Östrogen- und Progesteronkonzentrationen in den oben genannten Probensubstraten detektieren können. Die Validierung des Tests wird in Folgestudien an einer größeren Tierzahl durchgeführt werden.

zu erwartender Nutzen: Die Entwicklung eines vor Ort auf dem Betrieb durchführbaren Testsystems in den oben genannten Probensubstraten kann für landwirtschaftliche Betriebe von großer Bedeutung sein und übliche Methoden zur Brunstbeobachtung unterstützen oder ersetzen. Hormonanalytische Methoden zur Brunsterkennung können einen enormen Nutzen darstellen, da sie nicht nur die Brunsterkennung erleichtern sondern auch frühzeitige Hinweise auf Fruchtbarkeitsstörungen im Bestand liefern. Semiquantitative Progesterontests sind seit vielen Jahren kommerziell erhältlich, zeigen jedoch keine Brunst per se an, sondern nur die An- oder Abwesenheit eines Gelbkörpers. Um eine möglichst genaue Aussage über den Zyklusstand der Tiere zu erhalten, soll in diesem Projekt ein Testsystem zur gleichzeitigen Messung der Östrogen- und Progesteronkonzentration entwickelt werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es handelt sich bei der Probenentnahme um kurzzeitige, gering invasive Manipulationen, bei denen nicht mit nachfolgenden Schmerzen oder Leiden zu rechnen ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt sollen Proben von 6 gesunden Milchkühen gewonnen werden (Blut-, Milch-, Harn-, Kot- und Speichelproben).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die Hormonwerte und -Verläufe sind tierartspezifisch, daher muss die Entwicklung eines hormonbasierten Tests mit Substrat der Tierart Rind erfolgen. Nach unserem Wissen liegen bisher keine publizierten Ergebnisse ähnlicher Studien vor; entsprechende Substrate sind nicht anderwärtig erhältlich.

Verminderung: Für die Probenentnahme wurden Techniken ausgewählt, die im Rahmen der Routinediagnostik verwendet werden. Die Blutprobenentnahme erfolgt unter Verwendung eines Vacutainer Systems, das eine zuverlässige und schnelle Blutentnahme (10 ml) ermöglicht. Die Blutentnahme ist nur mit geringfügigen Schmerzen verbunden und stellt für das Tier kein Risiko dar. Die Menge des entnommenen Blutes im Vergleich zum Gesamtblutvolumen des Tieres vernachlässigbar. Die Milchproben werden aus dem Melkzeug entnommen, so dass kein Absetzen des Melkzeuges während des Melkens erforderlich ist. Für die Entnahme der Speichelprobe wird ein mit einer Klemme fixierter Wattebausch seitlich ins Maul eingeführt, wobei dem Tier keine Schmerzen zugefügt werden. Der Kot wird mittels Rektalhandschuh direkt aus dem Rektum entnommen, die Harnprobenentnahme erfolgt nicht-invasiv durch provozierten Harnabsatz. Nach den Probenentnahmen werden die Kühe wieder in die Herde entlassen. Es werden für die Studie Proben zu definierten Zeitpunkten des Sexualzyklus gewonnen. Dazu wird der Sexualzyklus der Tiere mittels des Ovsynch-Programmes synchronisiert. Dadurch können die Zyklusphasen, in denen sich die Tiere während der Probenentnahme befinden sollten, möglichst genau vorhergesagt werden. Die Probenentnahme findet während und nach den regulären Melkzeiten des Betriebes statt. So wird verhindert, dass der normale Tagesablauf der Tiere gestört wird. Die Fixierung für die Blut-, Harn- und Speichelentnahme findet dann direkt im Anschluss an das Melken statt, da die Tiere nach dem Melken im Fressgitter stehen und dort fixiert werden können.

Verfeinerung: Das gesamte Projekt dient der Verfeinerung, weil es ein nicht-invasives Verfahren zur Brunsterkennung etablieren soll. Dazu müssen die Ergebnisse aber mit dem „Goldstandard“ (Blutproben) verglichen werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel: Das homöopathische Arzneimittel Graphites soll an gesunden Saugferkeln und Mastschweinen über 7 Tage verabreicht werden und die dadurch verursachten Symptome, die einerseits Krankheitssymptome, andererseits Gemütssymptome darstellen, beschrieben und mit einer Placebogruppe (Verabreichung von Saccharosekügelchen) und mit der Kontrollgruppe (keine Gabe) verglichen werden. Eine homöopathische Arzneimittelprüfung dient der Beschreibung von auftretenden Symptomen, die dann in die Materia medica, einem alphabetisch gegliederten Nachschlagewerk, aufgenommen werden und der Mittelfindung bei einer homöopathischen Behandlung Hilfe leisten.

zu erwartender Nutzen: Falls die dokumentierten Symptome beim Schwein in anderen Fällen auftreten, kann man davon ausgehen, dass Graphites in diesen Fällen zur schnelleren Heilung beiträgt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es können möglicherweise kurzzeitig Juckreiz oder Unruhe auftreten, die jedoch mit Absetzen des Homöopathikums wieder verschwinden sollen. Es wird nicht erwartet, dass pathomorphologischen Veränderungen auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

60 Mastschweine der Rasse Edelschwein x Pietrain werden in je drei gleichgroße Gruppen unterteilt: Die Verumgruppe (n=20), die Placebogruppe (n=20) und die Kontrollgruppe (n=20). Jeder Gruppe werden gleich viele männliche wie weibliche Tiere zugeteilt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung:

Das Behandlungskonzept der Homöopathie geht davon aus, dass jeder Organismus anders auf Störungen der Gesundheit reagiert und individuelle Symptome entwickelt. Daher findet der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode keine Anwendung.

Verminderung:

Eine Gruppengröße von 20 Tieren entspricht den üblicherweise bei homöopathischen Arzneimittelprüfungen gewählten Zahlen. Laut § 135 des Organons werden Arzneimittelbilder bei der HAMP erst "durch viele Beobachtungen an vielen verschiedenen Individuen beider Geschlechter" beinahe vollständig und eine "Arznei kann bei ihrer Prüfung an Gesunden bei einer Person nicht alle ihre Befindungsveränderungen hervorbringen, sondern nur bei vielen verschiedenen Individuen" (§ 136 Organon).

Verfeinerung:

Um den wachsenden Schweinen unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden alle erforderlichen Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen. Die Haltungs- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Die Schweine werden in Gruppen, soweit wie möglich mit ihren Wurfgeschwistern bis zum Beenden des Versuchs gehalten. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Schweine haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert, zusätzlich werden die Tiere indirekt über Videoanalyse überwacht. Die Hauptbelastung wird das erhoffte, aber nicht unbedingt tatsächliche Auftreten von Abweichung des Normalzustandes wie vermehrte Unruhe und eventuell Juckreiz darstellen. Falls solche belastende Symptome auftreten sollten, wird die Globuligabe abgebrochen und die Symptome sollten in wenigen Stunden wieder verschwunden sein.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Multiple Sklerose ist eine neurologische Erkrankung, bei der es zu entzündlichen Veränderungen in Teilen des zentralen Nervensystems (Gehirn und Rückenmark) kommt. Sie tritt zumeist zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr auf. Frauen sind etwa doppelt so oft betroffen wie Männer. Weltweit gibt es etwa 2-2,5 Millionen Patienten.

Nach dem derzeitigen Stand der Forschung handelt es sich bei der Multiplen Sklerose um eine Autoimmunerkrankung. Vor allem Bestandteile der sogenannten „weißen Substanz“ des Gehirns und des Rückenmarkes, die als Myelinscheiden bezeichnet werden, stellen Angriffspunkte für die fehlgeleitete Entzündungsreaktion dar. Diese Myelinscheiden dienen als Isolationsschicht um die Axone, über die im gesamten Nervensystem Informationen übertragen werden. Eine Verletzung dieser Isolationsschichten behindert die Informationsübertragung, wodurch die klinischen, vom Betroffenen bemerkten Störungen entstehen. Diese klinischen Auswirkungen können sehr vielseitig sein, je nachdem wo der Entzündungsherd im Gehirn oder Rückenmark lokalisiert ist. Üblich sind Bewegungsstörungen, Blasen- und Darmstörungen, Depressionen, Müdigkeit, Kognitive Defizite, Schmerzen, Sensibilitäts-, Seh-, Sprech- und Sprachstörungen.

Cuprizon Mausmodelle der Multiplen Sklerose ist ein häufig verwendetes Modell dass bereits erfolgreich für die Austestung von neuen Medikamenten eingesetzt wird.

Durch diese Studie soll ein Cuprizon induziertes Multiple Sklerose (MS) Mausmodell etabliert werden, so dass dieses Modell im Anschluss zur Austestung von neuen Medikamenten gegen diese Krankheit eingesetzt werden kann. Für diese Studie werden nicht transgene Tiere für 6 Wochen über das Futter mit Cuprizon behandelt. Ein Teil der Tiere wird gleichzeitig täglich intraperitoneal mit Rapamycin behandelt das den Effekt des Cuprizon verstärken soll. Die eine Hälfte der Tiere wird einmal die andere Hälfte zweimal in 3 Verhaltenstests untersucht und nach insgesamt 13 Wochen euthanasiert und Gewebe für histologische und biochemische Untersuchungen entnommen. Während der letzten Wochen sollte die Remyelinisierung einsetzen, so dass der Effekt von Cuprizon und Rapamycin aufgehoben werden soll.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 80 C57BL/6 wildtyp Mäuse beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um Medikamente gegen die Multiple Sklerose zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen, daher ist es unerlässlich passende Tiermodelle zu etablieren und ihre Pathologien zu untersuchen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Mit dem Alter nehmen sowohl Schwere als auch Inzidenz von Infektionen bei älteren Menschen zu, einhergehend mit einer verminderten Wirksamkeit von Impfungen. Vor dem Hintergrund stetig steigender Lebenserwartung in Industrieländern gewinnt die Thematik des gesunden Alterns zunehmend an Bedeutung. Eine Strategie, um möglichst vielen Menschen zu helfen, gesund alt zu werden, ist die intensive Suche nach Möglichkeiten, Impfungen für ältere Menschen zu verbessern. Faktoren, die den Impferfolg beeinflussen, sind zum Beispiel das immunologische Gedächtnis, Veränderungen des B- und T-Zell-Kompartiments oder altersbedingte Veränderungen des Knochenmarks. Allerdings werden die Bedeutung und Auswirkungen dieser Faktoren bislang noch unzureichend verstanden.

zu erwartender Nutzen: Wir wollen die zahlreichen noch offenen Forschungsfragen angehen und untersuchen:

- wie der Impferfolg vom immunologischen Gedächtnis und biologischen Alter abhängt,
- welchen Einfluss Gedächtnis-T-Zellen auf die B-Zell-Antwort bei wiederholtem Antigenkontakt im Alter ausüben,
- wie sich altersbedingte intrinsische und extrinsische Faktoren auf die B-Zell-Antwort auswirken, und
- von welcher Relevanz das Knochenmark für die Aufrechterhaltung des immunologischen Gedächtnisses im Alter ist.

zu erwartender Schaden: Um diese Faktoren zu untersuchen, werden wir zu einem Mausmodell greifen und Tetanus-sowie Diphtherie-Toxoide (humanen Tetanus/Diphtherie Impfstoff) als Antigene verwenden.

Durch das Verändern bzw. Anpassen jedes einzelnen Faktors und das Simulieren menschlicher Impfstrategien werden wir in der Lage sein, einen Einblick in die wechselseitige Abhängigkeit dieser Faktoren zu gewinnen. Schließlich werden wir neue Möglichkeiten für die Verbesserung von Impfungen bei älteren Menschen aufzeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Experimente ist vorgesehen, insgesamt 204 Mäuse zu verwenden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Durch entsprechende Maßnahmen wird sichergestellt, dass die Zahl der Versuchstiere minimal gehalten wird, indem alle notwendigen Schritte zur Vermeidung und Verminderung sowie Verfeinerung der geplanten Tierexperimente berücksichtigt werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Neben Herzkreislauf Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3 % der Bevölkerung von 65-74 Jahren, 20 % der von 75-84 Jahren und 50 % der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich ca. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer Krankheit sind. 5xFAD transgene Mäuse spiegeln auf Grund von 5 Mutationen in 3 Alzheimer-relevanten humanen Transgenen laut Literatur sehr gut das pathologische Bild der Alzheimer Krankheit wider. Um die Tiere für die Austestung einer neuen Substanz gegen die Alzheimer'sche Krankheit verwenden zu können muss jedoch erst die Pathologie der zu untersuchenden Parameter bestätigt werden. Daher sollen die 5xFAD transgenen Tiere in einem ersten Schritt im Alter von 9 Monaten in 4 Verhaltenstests charakterisiert werden um im Anschluss eine neue Substanz in den Tieren zu testen indem nach der Behandlung der Tiere die gleichen Verhaltenstests durchgeführt werden. Mit diesen Projekten wird es möglich sein die Wirksamkeit einer neuen Testsubstanz gegen die Alzheimer'sche Krankheit zu testen.

Diese Studie ist in zwei Teilprojekte unterteilt: Im erste Projekt werden transgene und nicht transgene 9 Monate alte 5xFAD Mäuse beiden Geschlechts auf ihre Leistungen im Open Field Test, Rota Rod Test, Y-Maze Test und Wire Suspension Test untersucht. Danach werden die Tiere euthanasiert und das Gehirngewebe histologische und biochemisch auf pathologische Merkmale untersucht. Im Anschluss werden im zweiten Projekt weitere 5xFAD und nicht transgene Mäuse des gleichen Alters und Geschlechts für 3 Tage täglich intraperitoneal mit der Testsubstanz behandelt und direkt im Anschluss in den gleichen Verhaltenstests untersucht. Danach werden auch diese Gehirne histologisch und biochemisch auf pathologische Merkmale untersucht. Ziel von Projekt 1 ist daher die Bestätigung des Phänotyps in 9 Monate alten Tieren mittels 4 Verhaltenstests, Histologie und Biochemie. Ziel von Projekt 2 dagegen ist die Bestätigung einer positiven Wirkung der neuen Testsubstanz gegen die Alzheimer'sche Krankheit mittels Verhaltenstests sowie histologischen und biochemischen Analysen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 60 transgene 5xFAD Mäuse und 40 nicht transgene Geschwistertiere beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Testung neuer Substanzen gegen die Alzheimer'sche ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Zweck des Tierversuches ist die Untersuchung der selektiven Modulation von Neurotransmitterrezeptoren im zentralen Nervensystem. Diese Studien leisten einen wesentlichen Beitrag zur Aufklärung der physiologischen Funktion dieser Strukturen, ihrer Rolle bei bestimmten Erkrankungen bzw. zur Evaluierung des Potentials neuer Substanzen zur Behandlung von Erkrankungen, die mit Fehlfunktionen dieses Neurotransmittersystems assoziiert sind. Angesichts der hohen Zahl an betroffenen Menschen in Österreich und den Nachteilen der momentan verfügbaren Therapien besteht dringender Forschungsbedarf an neuen Arzneistofftargets, aber auch an neuen nebenwirkungsärmeren Arzneistoffen. Das Ziel unserer Arbeit ist daher die Identifizierung neuer Therapieoptionen. Im Mittelpunkt der Untersuchungen steht die Beurteilung von angst- und krampflösenden Effekten neuer potentieller Wirkstoffe sowie die erste Untersuchung von möglichen Nebenwirkungen wie Sedierung. Daneben können auch erste Einblicke in das mögliche Abhängigkeitspotential der Substanzen gewonnen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Beantragt werden 5640 männliche C57BL/6N Mäuse im Alter von 3-6 Monaten für eine Versuchsdauer von 4 Jahren. Diese Zahl stellt ein Maximum dar, da zum Zeitpunkt des Antrages noch nicht bekannt ist, ob die Substanzen wirksam sind. Daher wird vor der eigentlichen detaillierten Studie eine Vorevaluation der Substanzen mit einer geringen Anzahl von Tieren durchgeführt. Nur Substanzen, die signifikant bessere Eigenschaften als die momentan erhältlichen Arzneistoffe aufweisen, werden auch weiter untersucht.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Diese Effekte können ausschließlich an einem Organismus festgestellt werden, daher ist der Tierversuch unvermeidbar. Vor Untersuchung der Effekte im Tiermodell werden die zu testenden Substanzen ausführlich in *in vitro* und *in silico* Modellen untersucht ("replace").

Verminderung: Da die Versuch generell auf der Beobachtung kurzfristiger Änderung des Verhaltens nach Substanzgabe beruht, können die Tiere nach einer Erholungsphase von etwa 3 Wochen wiederholt verwendet werden, wodurch die Zahl der zu verwendenden Tiere massiv reduziert werden kann ("reduce").

Verfeinerung: Zur Evaluierung der Substanzeffekte werden vorwiegend verhaltenspharmakologische Standardtests bzw. physiologische Parameter wie Änderung der Körpertemperatur herangezogen. Die angewandten Paradigmen sind seit Jahrzehnten etabliert und basieren generell auf dem natürlichen Abwehrverhalten von Nagetieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Infektionen mit porzinen Influenza A Virusstämmen (FLUAVsw) stellen ein weltweites Problem dar und sind auch in Schweinemast- und Zuchtbetrieben in Europa weit verbreitet. Ebenso stellen Influenzainfektionen beim Schwein durch potentielle Übertragung auf den Menschen eine Zoonose-Gefahr dar. Die Entwicklung neuer Immunisierungsstrategien soll die Kontrolle und Prävention von Influenzainfektionen laufend verbessern. Ziel dieses Projektes ist der Test von neuen Vakzin-Kandidaten gegen FLUAVsw mittels Vektorvakzinen im Schwein. Zusätzlich soll die protektive Wirkung der Vakzine mit nachfolgender Belastungsinfektion untersucht werden. Dazu soll die Antigen-spezifische Antwort des humoralen, sowie des zellulären Immunsystems untersucht werden, mit besonderem Augenmerk auf die Ausbildung eines stabilen immunologischen Gedächtnisses. Zusätzlich zu den systemischen Parametern im Blut, soll die Immunantwort in der Lunge, einem Hauptzentrum des Infektionsgeschehens, untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse werden über die Wirkungsweise und die Protektivität der Vakzin-Kandidaten Aufschluss geben und darüber hinaus durch Erhebung der Daten über das zelluläre Immunsystem einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung neuer Impfstrategien mit Vektorvakzinen beim Schwein leisten.

zu erwartender Schaden: Durch die Immunisierung selbst werden keine Nebenwirkungen und Belastungen für das Tier erwartet. Um den Impferfolg zu bestätigen, ist allerdings eine nachfolgende Infektion der Tiere (mit Ausnahme der Kontrollgruppe) unerlässlich. Es werden jedoch zahlreiche Maßnahmen ergriffen, um die Belastung der infizierten Tiere so gering wie möglich zu halten (Verminderung).

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden insgesamt 28 Schweine in fünf Versuchsgruppen mit je sechs Tieren eingeteilt (Kontrollgruppe n=4). Diese Gruppen umfassen zwei zu testende Vakzin-Kandidaten und entsprechende Kontrollgruppen, die mit einem Kontroll-Vektor ohne Impfantigen oder nur mit einer physiologischen Pufferlösung immunisiert werden. Ebenso gibt es eine passende nicht-infizierte Kontrollgruppe als Referenz. Die Einbeziehung der unterschiedlichen Gruppen ist notwendig um klare Aussagen über eine Vakzin-spezifische Stimulation des Immunsystems, die im besten Fall mit einem Impferfolg korreliert, gewährleisten zu können.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Um den Einfluss der Immunisierung auf das porcine Immunsystem detailliert und praxisrelevant untersuchen zu können, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt der Forschung nur eine Untersuchung am lebenden Gesamtorganismus möglich und kann nicht durch versuchstierfreie Methoden ersetzt werden. Deshalb kann dieser Versuch nicht durch geeignete Ersatzmethoden wie Zellkultur oder künstliche Systeme im Labor ersetzt werden.

Verminderung: Es werden zahlreiche Maßnahmen ergriffen, um die Anzahl der Tiere sowie die Belastung der Tiere so gering wie möglich zu halten. Nur eindeutig benötigte Versuchsgruppen werden in diesem Versuch eingeplant. Durch gut etablierte Methoden für die nachfolgenden Analysen und geeignete statistische Auswertungen ist es möglich die Tierzahl auf ein Minimum von 6 Tieren pro Gruppe (Kontrollgruppe n= 4) zu reduzieren. Die Infektion der Tiere erfolgt mit einem Influenzasubtyp der gut vom Immunsystem des Schweins kontrolliert werden kann, so dass nur mit kurzfristigen klinischen Symptomen wie erhöhter Körpertemperatur und verringerter Fresslust zu rechnen ist. Geeignete Abbruchkriterien wurden definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere bei etwaigen auftretenden Komplikationen oder Erkrankungen während des Tierversuchs vermeiden sollen. Des Weiteren wird durch die geringe Dauer des Versuches nach Infektion die Belastung der Tiere auf ein mögliches Minimum reduziert.

Verfeinerung: Um den Tieren jegliches unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen werden mehrere Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen sollen. Die Unterbringung der Tiere entspricht den allgemeinen Haltungsbedingungen. Eine regelmäßige Kontrolle der Tiere durch ausgebildetes Pflegepersonal sowie Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet eine nahezu lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Die Haltung der Tiere in Gruppen schafft zusätzlich eine Umgebung, die den physiologischen Bedürfnissen der Tiere entspricht. Durchgehender Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser wird gewährleistet. Ebenfalls ist für adäquates Beschäftigungsmaterial gesorgt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In Österreich wurde im Jahr 2013 jedes 12. Kind zu früh geboren. Durch immer besser werdende Therapiemöglichkeiten hat die Überlebensrate der Frühchen in den letzten Jahrzehnten deutlich zugenommen. Jedoch haben vor allem jene die sehr klein sind ein sehr hohes Risiko eine Schädigung des Gehirnes zu erleiden. Dadurch kann es zu schweren geistigen und körperlichen Behinderungen kommen, welche für sie selbst und deren Familien eine große Bürde darstellen. Jahrelange interdisziplinäre Behandlungen mittels Physio-, Logo- und Ergotherapie sind meist erforderlich. Spezifische Therapien für die frühkindliche Hirnschädigung gibt es derzeit leider noch nicht. Daher möchten wir in einem Modell der neugeborenen Maus eine Substanz testen, welche ein vielversprechendes Wirkungsprofil aufzeigt, um den schädigenden Einflussfaktoren im Gehirn von Frühgeborenen entgegen zu wirken. Für die Durchführung werden die Mäuse narkotisiert und verspüren keine Schmerzen. Mithilfe unserer Untersuchungen können wir deren Wirkung und Nebenwirkung im frühkindlichen Hirnschaden evaluieren und hoffen damit einen Schutz für das unreife Gehirn dieser zu früh geborenen Kinder entwickeln zu können und diesen Kindern neue Perspektiven zu ermöglichen.

2. Art und Anzahl der Tiere

247 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Durch die Narkose verspüren die Mäuse keine Schmerzen. Die Jungtiere können bei ihren Muttertieren gehalten werden und werden durch qualifiziertes Personal fachgerecht gepflegt und täglich kontrolliert. Die Ergebnisse werden schrittweise analysiert, um die Anzahl der Tiere möglichst gering zu halten. Die zu testende Substanz wird bereits im klinischen Alltag angewendet.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Erhöhter Augendruck ist die Ursache für die Hälfte aller Erblindungen in der industrialisierten Welt. Die Behandlungsmethoden sind aufwendig und oftmals wird nicht die erwünschte Wirkung erzielt. Ziel des Projekts ist es daher, neue Regulationsmechanismen des Augendrucks zu finden und zu erforschen und damit die Basis für neue Therapiemöglichkeiten zu legen.

Die Belastung der Versuchstiere ist nach dem Gesetz als gering einzuschätzen, die Versuchsdurchführung an Versuchstieren kann nicht durch Zellkulturen oder ähnliche Alternative Methoden ersetzt werden. Der potentielle Nutzen ist hoch, da das Risiko eines Schadens am Auge durch erhöhten Druck pro 1 mmHg um 10% steigt und umgekehrt durch Reduktion pro mmHg um 10% sinkt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Das beantragte Forschungsprojekt sieht die Verwendung von Sprague Dawley Ratten vor. Ratten sind Menschen in Bezug auf die Anatomie des Auges und den Abflusswegen für das Augeninnenwasser sehr ähnlich und werden daher häufig als Modellorganismen für diese Art von Untersuchungen eingesetzt. Im Projekt sind 150 Tiere vorgesehen, wobei bei vorzeitigem Erreichen der Projektziele die Versuche eingestellt werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im beantragten Projekt wurde bei der Versuchsplanung großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der notwendigen Versuche möglichst gering zu halten, indem für bestimmte Fragestellungen Surrogatparameter verwendet werden, die eine höhere Erfolgswahrscheinlichkeit ermöglichen. Die Untersuchungen sind aufgrund der technischen Möglichkeiten und der hohen Zahl von Einflussvariablen am Menschen oder in reduzierten Systemen wie Zellkulturen nicht durchführbar. Begleitend zu diesem Projekt werden Forschungsergebnisse in ein Simulationsmodell übernommen um zukünftig auf der Basis der Simulation Fragen beantworten zu können und somit Versuche zu vermeiden. Dies führt außerdem zu einer Verbesserung der Planung zukünftiger Projekte und trägt somit zur Verfeinerung der Forschungsstrategie über längere Zeit bei.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Knochenbruchheilung ist ein komplexer Prozess, der von unterschiedlichen Gewebe- und Zelltypen beeinflusst wird. Der Prozess der Knochenbruchheilung ist mit einer Kallusbildung verbunden. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) spielt eine wichtige Rolle als potenter Mediator der Angiogenese. Sowohl die direkte Aktivierung von Osteoblasten durch VEGF als auch die indirekte Formierung von Knochen durch ein Zusammenspiel mit Bone Morphogenetic Proteins (BMPs), ließ sich in In-vitro Studien zeigen. Im Tiermodell konnte außerdem gezeigt werden, dass die Applikation von VEGF zur Behandlung von Tibiapseudarthrosen gleichermaßen zu einer verbesserten Knochenheilung führt, wie auch die autologe Transplantation von Knochen. Basierend auf dieser Erkenntnis, soll erstmals die Wirkung von VEGF Plasmiden zur Behandlung der Knochenbruchheilung bzw. Pseudarthrose in Kombination mit Sonoporation untersucht werden. Diese Studie wird als prospektive Tierstudie durchgeführt. Bei dieser Studie wird ein Pseudarthrosen/Frakturmodell bei Ratten eingesetzt, in dem die Wirkung von VEGF Plasmiden mit Sonoporation auf Knochendefekte bei sonst fachgerechter medizinischer Versorgung und Schmerzbekämpfung untersucht wird. Im weiteren Verlauf werden Röntgenaufnahmen und Computer Tomographie (CT) zur Kontrolle durchgeführt. Letztlich werden die Tiere eingeschläfert. Anschließend werden die Knochen radiologisch mittels Mikro-Computertomographie aufgearbeitet (CT-Scan) und sowohl einer biomechanischen Testung als auch histomorphologischen Aufarbeitung unterzogen.

2. Art und Anzahl der Tiere

280 „Sprague-Dawley“ Ratten (erwachsen, männlich).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Ziel dieser Studie ist es einerseits die Osteoinduktivität einer VEGF Plasmidbehandlung zu zeigen und andererseits die Effektivität unterschiedlicher Applikationsmethoden des VEGF Plasmids zu evaluieren und erstmalig in der Therapie von Frakturen und Pseudoarthrosen an Rattenmodellen zu untersuchen. Diese konkrete Fragestellung kann nur am lebenden Organismus beantwortet werden.

Verminderung: Die Operation sowie sämtliche Nachuntersuchungen werden nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt. Die Anzahl / Fallzahlplanung der dafür notwendigen Tiere wurde im vor hinein durch Berechnungen festgelegt.

Verfeinerung: Das Projekt verwendet ein etabliertes international akzeptiertes Rattenmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Der Projektleiter sowie die projektbeteiligten Personen sind erfahrene Chirurgen und haben Erfahrung mit tierexperimentellen Studien. Sämtliche Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose und Analgesie. Die postoperative Behandlung erfolgt unter standardisierten Bedingungen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Projektes ist es, die Ätiologie der Lochkrankheit beim Diskusfisch, *Symphysodon aequifasciatus*, herauszufinden. Zurzeit existieren zahlreiche Vermutungen über die Ursache dieser Erkrankung. Dazu gehören eine Infektion mit dem Flagellaten *Spironucleus vortens*, falsche Fütterung, unausgewogene Futtermittelzusammensetzung, schlechte Wasserqualität sowie der Einsatz von Aktivkohlefiltern. Die Krankheit beginnt mit der Ausbildung von Läsionen über- und unterhalb der Augen sowie entlang des Seitenlinienorgans, die größer und tiefer werden und miteinander konfluieren können. Erkrankte Tiere sind weiterhin lebensfähig. Eine Infektion im Bereich der Läsionen kann zum Tod der Tiere führen. Es handelt sich um eine weit verbreitete und bedeutende Erkrankung im Zierfischbereich. Bis zum heutigen Tage gibt es keine systematische wissenschaftliche Aufarbeitung dieser Symptomatik. Diese Studie untersucht den Einfluss einer unausgewogenen Bilanz an Mineralstoffen im Futter und im Wasser auf die Entstehung der Lochkrankheit. Die schädlichen Auswirkungen solcher Imbalancen auf das Skelettsystem sind beim Säugetier bekannt. Beim Fisch sind negative Auswirkungen solcher Imbalancen beschrieben, nicht jedoch im Zusammenhang mit den hier untersuchten Erscheinungen.

zu erwartender Nutzen: besteht im Erkennen des Auslösers für die Entstehung der Lochkrankheit. Darüber hinaus werden neue Erkenntnisse über den Zusammenhang von Umweltbedingungen und dem Metabolismus der Fische sowie wirksame prophylaktische Maßnahmen erwartet.

zu erwartender Schaden: betrifft die Versuchsfische, da die Ausbildung von Läsionen oberhalb und unterhalb der Augen sowie entlang des Seitenlinienorgans erwartet wird. Bei tiefer Ausprägung der Läsionen mit Substanzverlust aus tieferen Gewebeschichten kann es zu Apathie, Futterverweigerung und anschließender Abmagerung der Fische kommen, was durch eine frühzeitige Euthanasie der Fische vermieden wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art der verwendeten Tiere: Diskus, *Symphysodon aequifasciatus*

Anzahl der verwendeten Tiere: 24

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Ein Versuch an lebenden Fischen ist insofern notwendig, als die Reaktion des Organismus auf die unterschiedlichen Umweltverhältnisse für die Ausbildung der Erkrankung eine wesentliche Rolle spielt. Die Gruppengröße für den Versuch mit sechs Fischen pro Gruppe ergibt sich aus der Tatsache, dass Stress durch hohe Besatzzahlen vermieden werden soll, der Diskus aber in einem Gruppenverband von mindestens sechs Tieren gehalten werden soll, wobei die Beckengröße für sechs Fische 100 Liter beträgt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Emotionen sind ein zentraler Teil unserer Persönlichkeit, sie leiten unser Handeln und beeinflussen unser Denken. Emotionale Störungen sind oft Auslöser für psychische Erkrankungen. Das hier beantragte Forschungsprojekt soll die Frage beantworten, wie Emotionen im Gehirn reguliert werden und welche neuronalen Schaltkreise daran beteiligt sind.

Als zentrale Schaltstelle für Emotionen wurde das limbische System identifiziert. Über die Funktion und Steuerung einzelner Strukturen innerhalb dieses Systems ist bereits sehr viel bekannt, etwa dass der Mandelkern (Amygdala) emotionale Erinnerung speichert. Auch die Wirkungsweise der klassischen angstlösenden Medikamente ist auf molekularer Ebene gut untersucht. Wir wissen jedoch nicht, wie einzelne Neuronen-Populationen zusammenspielen. Diese Detailkenntnis ist jedoch für ein mechanistisches Verständnis von emotionalen Gehirnfunktionen im Normal- und Krankheitsfall und deren genetischer und pharmakologischer Regulation unerlässlich.

Dieses Wissen zu verfeinern, ist das Ziel des vorliegenden Projekts. Im Modellsystem Maus sollen die spezifischen Nervenzell-Populationen untersucht werden, die Emotionen verarbeiten. Mit diesem Wissen sollen die Mechanismen greifbar werden, die zu Angstzuständen und Suchtkrankheiten führen. Auf lange Sicht sollen dadurch gezieltere pharmakologische Therapieansätze ermöglicht werden. Bei einem kleinen Teil der Tiere (unter 100 pro Jahr) ist die Implantation eines Sensors geplant, der während der Verhaltenstests die Herzfrequenz misst. Diesem zusätzlichen Eingriff, der für die Tiere die Belastung einer Operation mit sich bringt, steht eine verfeinerte Aussagekraft der Experimente gegenüber. In Versuchen, die mit Angstzuständen verbunden sind, ist die Erhöhung des Herzschlages ein wichtiger Indikator.

2. Art und Anzahl der Tiere

Über die gesamte Projektdauer von fünf Jahren werden 3432 Wildtyp-Mäuse und 1368 transgene Mäuse benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Das Projekt ist so angelegt, dass die mit den Eingriffen und Versuchen verbundenen Schmerzen und Unannehmlichkeiten für die Tiere auf ein unvermeidbares Mindestausmaß reduziert werden. Für chirurgische Eingriffe werden die Tiere mittels Inhalationsnarkose betäubt und die Narkosetiefe laufend überprüft. Die Körpertemperatur wird stabilisiert und die Augen vor dem Austrocknen geschützt. Nach dem Eingriff erfolgt die Schmerztherapie noch drei Tage lang über das Trinkwasser. Der Gesundheitszustand der Tiere wird während der ersten beiden Wochen nach dem Eingriff täglich beobachtet. Um zu gewährleisten, dass die Versuche so schonend und effizient wie möglich durchgeführt werden, wird die angewandte Methodik täglich mit dem in Publikationsdaten verfügbaren Wissensstand abgeglichen. Gegebenenfalls wird die Methodik entsprechend angepasst. Müssen Versuchstiere getötet werden, so erfolgt dies nach erprobten, weitgehend schmerz- und stressfreien Standardverfahren.

Der Einsatz von qualifiziertem und umfassend geschulten Personal sowie die Fachkompetenz der beteiligten WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der Tiere und die Schmerzen und Ängste, denen sie ausgesetzt sind, so gering wie möglich gehalten werden.“

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

zu erwartender Nutzen: Diabetes mellitus ist weltweit eine der am schnellsten zunehmenden Erkrankungen. Die ansteigende Prävalenz von Typ2 Diabetes ist eine Folge von Umweltfaktoren wie Adipositas, Überalterung der Bevölkerung und Bewegungsmangel, verstärkt durch genetische Prädisposition mit pankreatischer β -Zelldysfunktion. Die Ätiologie der Erkrankung involviert meist die Desregulation und Desynchronisation der Insulinsekretion und Insulinsensitivität. Unzureichende Insulinsekretion kann Folge einer reduzierten Zellmasse oder eines inadäquaten Insulinsekretionsmechanismus sein. Spannungs-aktivierte Kalziumkanäle sind funktionell eng an die Hormonsekretion aus pankreatischen Inselzellen gekoppelt.

Das primäre Ziel des vorliegenden Antrags ist die Untersuchung vier unterschiedlicher transgener Mausmodelle, welche entweder unterschiedliche Untereinheiten relevanter Kalziumkanäle nicht exprimieren bzw. veränderte Funktionalität in den Kalziumkanälen aufweisen. Gerade das Verständnis um die Auswirkungen dieser pathologischen Veränderungen ist zum Verständnis der Erkrankung von großer klinischer Bedeutung. Denn die zu untersuchenden Kanaluntereinheiten sind das primäre Ziel unterschiedlicher neuropathischer, analgetischer und antiepileptischer (Gabapentin, Pregabalin) oder antihypertensiver Stoffe.

zu erwartender Schaden: Unser experimenteller Ansatz besteht aus zwei Tests zur Erkennung einer Diabetes Erkrankung. Diese Tests werden im klinischen Alltag als Standardtests beim Patienten eingesetzt (Glucose-Toleranztest [GTT], Insulinsensitivitäts-Test [ITT]). Der GTT ermöglicht eine Aussage über den Abbau einer definierten Menge intraperitoneal applizierter Glucose (IPGTT). Hierbei wird die Insulin-Sekretion und Insulin-Wirkung in Bezug auf die Reduktion des Glukose-Anteils im Blut gemessen. ITT hingegen quantifiziert die Glukose-Konzentration im Verlauf der Zeit als Antwort auf eine einmalige intraperitoneale Gabe von Insulin. Wird durch die verwendeten Tests ein Diabetes mellitus-Phänotyp erkannt und werden durch zusätzliche *in-vitro* Untersuchungen Reduktionen in der β -Zellmasse erkannt, erfolgt eine Quantifizierung der Rolle von Kalziumkanal-Untereinheiten auf die Neogenese der pankreatischen Zellmasse. Da Neogenese die Replikation von Zellen erfordert, wird relevanten Versuchstieren das Nukleotid-Analogon Bromodexyuridin (BrdU) injiziert und dessen Inklusion in die Kerne von sich teilenden Zellen untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Experimente werden in männlichen und weiblichen Versuchstieren durchgeführt, da eine Vielzahl von Studien zeigt, dass eine Erkrankung an Diabetes mellitus geschlechtsspezifisch sein kann. Die maximale Anzahl an Versuchstieren in den kommenden 5 Jahren beträgt 180 Mäuse.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die überwiegende Anzahl an Experimenten kann und wird nicht an lebenden Tieren durchgeführt sondern verwendet isolierte Langerhansche Inseln bzw. einzelne Zellen aus den Langerhanschen Inseln.

Verminderung: Die geplanten Experimente werden zuerst mit einer geringen Anzahl von Versuchstieren durchgeführt. Falls hierbei ein starker Unterschied zwischen den genetisch modifizierten Tieren und der Kontrollgruppe zu sehen ist, wird die Anzahl der weiteren Versuchstiere nochmals um die Hälfte reduziert. Die gleichen Tiere werden dann auch für den GTT und ITT verwendet, wodurch die Gesamtzahl der Versuchstiere nochmals reduziert würde. Im Fall dass der GTT und ITT nicht auf einen Diabetes Mellitus-Phänotyp hinweisen sollten, werden keine weiteren Tests (BrdU-Experimente) durchgeführt.

Verfeinerung: Der physische und psychische Stress, dem die Versuchstiere ausgesetzt sind, wird durch die Handhabung der Tiere durch erfahrenes und geschultes Personal in den täglichen Routinen minimiert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Der Tierversuch dient als Virulenzstudie neu isolierter Stämme des PRRS (porzines reproduktives und respiratorisches) Virus.

zu erwartender Nutzen: Erkenntnisgewinn; die Möglichkeit einer Entwicklung eines neuen, besser wirksamen Impfstoffes;

zu erwartender Schaden für die Tiere: bei hoher Virulenz der Stämme: hohes Fieber, entzündliche Veränderungen der Lunge, Dyspnoe; Ödeme; Anorexie; Der Tierversuch wird als hochgradige Belastung für die Tiere eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Schweine

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Da es sich um einen Schweine-spezifischen Erreger handelt und die Auswirkungen des Erregers auf den Gesamtorganismus beurteilt werden sollen, ist eine Verwendung von Schweinen unumgänglich.

Verminderung: Es wird die für eine Pilotstudie sinnvolle Mindestanzahl eingesetzt (fünf Tiere pro Infektionsgruppe).

Verfeinerung: Die Schweine werden in Gruppen zu fünf Tieren in Bodenhaltung gehalten. Futter und Wasser werden ad libitum angeboten. Zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere werden Liegematten, Wärmelampen und adäquates Ferkelspielzeug angeboten. Die Kontrolle der Tiere erfolgt mindestens einmal täglich, bei klinischen Symptomen der Tiere mehrmals täglich. Bei Auftreten schwerwiegender klinischer Symptome werden die betreffenden Tiere vor Ablauf der geplanten Versuchsdauer getötet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. April 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Schon vor 100 Jahren beschrieb Alois Alzheimer die zwei charakteristischen Proteinablagerungen der Alzheimerschen Erkrankung (AD), von denen wir heute wissen, dass es sich dabei zum einen um die so genannten Neurofibrillenbündel und zum anderen aus β -Amyloid bestehenden Plaques handelt.

Neben der Alzheimer'schen Erkrankung ist Morbus Parkinson (PD) eine der häufigsten neurodegenerativen Krankheiten des Menschen. PD ist eine chronisch fortschreitende, neurodegenerative Erkrankung mit Störungen der willkürlichen und unwillkürlichen Motorik. Die ersten spezifischen Symptome treten fatalerweise erst nach der Degeneration von 60 bis 80% der Neurone in der Substantia nigra auf. PD ist eine neurologische Erkrankung der Basalganglien. Diese Anhäufung von Nervenzellen steuert motorische Abläufe und die aufrechte Körperhaltung. Durch Degeneration von dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra pars compacta (SNpc) kommt es bei dieser Krankheit zu einem Mangel des Neurotransmitters Dopamin im Striatum.

Da einmal abgestorbene Neuronen im Gehirn nicht ersetzt werden können, stützt sich die Suche nach Medikamenten immer häufiger auf protektive Substanzen, so dass die Neuronen erst gar nicht verloren gehen. Die hier zu testenden Substanzen sollen diesen protektiven Effekt haben und hier im *in vivo* Tiermodell für Neurodegeneration auf ihre Wirksamkeit getestet werden.

Diese Studie ist in zwei Projekte unterteilt: Im ersten Projekt soll getestet werden welche MPTP Konzentration und welcher Untersuchungszeitpunkt nach der einmaligen Injektion der richtige ist um eine akute Schädigung durch das MPTP im Gehirn zu untersuchen. Im zweiten Projekt sollen Mäuse dann für eine Woche präventiv mit einer von 2 Testsubstanzen behandelt werden und danach erst mit MPTP geschädigt werden. Ziel dieser Studie ist es zu testen ob die Testsubstanzen die neurodegenerative Wirkung des MPTPs verhindern können. Langfristig sollen diese neuen Testsubstanzen zur präventiven Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten wie z.B. Alzheimer oder Parkinson eingesetzt werden.

Bei einer zunehmend älter werdenden Bevölkerung nimmt die Bedeutung von altersassoziierten neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer oder Parkinson immer mehr zu. Im Hinblick auf die Entwicklung von Therapien ist es deshalb unerlässlich, die zugrunde liegenden pathogenen Mechanismen zu verstehen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 126 C57BL/6 Mäuse beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Testung neuer protektiver Substanzen gegen neurodegenerativer Krankheiten ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Erkrankungen der Aorta (Hauptschlagader), wie etwa eine pathologische Erweiterung der Aorta, stellen aufgrund ihrer Komplexität und ihrer hohen Sterberaten eine besondere Herausforderung in der medizinischen Behandlung dar. In den meisten Fällen erfordert eine Erkrankung der Hauptschlagader einen interventionellen oder operativen Eingriff um das Gefäß zu stabilisieren, da sonst die lebensbedrohliche Ruptur des Gefäßes droht. Die gefürchtetste Komplikation bei diesen lebensrettenden Maßnahmen ist, dass es während des Eingriffes zu einer Minderversorgung des Rückenmarkes kommt. Dies wiederum kann einen Sauerstoffmangel und eine irreversible Schädigung des Rückenmarkes verursachen, was meist zum Untergang von Nervenzellen im Rückenmark führt und in weiterer Folge eine Querschnittslähmung verursachen kann. Derzeit gibt es keine kurative Therapie bei einer bereits eingetretenen Schädigung des Rückenmarkes nach Aorteneingriffen.

Die Stoßwellentherapie ist mittlerweile bekannt dafür, regenerative Effekte in minderversorgtem und geschädigtem Herzmuskelgewebe zu zeigen. Dies erfolgt über eine vermehrte Gefäßneubildung und damit verbesserte Versorgung im geschädigten Gewebe. Die beschriebenen Effekte könnten zu einer verbesserten Regeneration des Rückenmarkes nach einer bereits eingetretenen Schädigung des Rückenmarkes bei einem Eingriff an der Aorta führen und somit die Lebensqualität der zu therapierenden Patienten dramatisch verbessern.

zu erwartender Nutzen: Erkrankungen der Hauptschlagader sind besonders gefährlich, da eine plötzliche Ruptur zu einem sofortigen Tode führen kann. Daher sind Eingriffe, bei denen der erkrankte Abschnitt stabilisiert oder ersetzt wird, von immenser Bedeutung. Die gefürchtetste Komplikation dieser Eingriffe ist die Querschnittslähmung. Diese hat fatale Folgen für den Patienten und bedeutet eine massive Einschränkung der Lebensqualität. Diese Komplikation ist bis dato unbehandelbar. Aufgrund der bekannten Vordaten könnten die betroffenen Patienten von der Stoßwellentherapie profitieren. Obwohl der Versuch mit einer Belastung der Versuchstiere einhergeht, könnten die dadurch erworbenen Kenntnisse zu einer Therapie für derzeit unheilbar kranke Menschen führen.

zu erwartender Schaden: Der zu erwartende Schaden für die Tiere beinhaltet eine Operation in Narkose. Zusätzlich werden mit den Tieren motorische Tests durchgeführt, um die Wirkung der Therapie zu objektivieren. Diese sind mit keinen zusätzlichen Schmerzen für die Tiere verbunden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 100 Mäuse verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise den sog. Tube formation assay oder auch den Aortic ring assay als Angiogenesenachweise.

Verminderung: Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wird der darauffolgende Schritt und daher die Verwendung weiterer Tiere durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird.

Verfeinerung: Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Zusätzlich wird auf besonders sorgfältige Schmerzstillung mittels potenter Schmerzmittel geachtet. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Haltung der Tiere erfolgt in Gruppenhaltung mit environmental enrichment. Nach Eingriffen werden die Tiere 3x täglich visitiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Projektes ist die Untersuchung zur Auswirkung einer maternalen Immunisierung gegen *Cystoisospora suis*, den Erreger der Saugferkelkokzidiose, auf die Ferkelgesundheit. Dieser Einzeller verursacht schwere Erkrankungen bei Saugferkeln, da er durch seine Vermehrung in den Zellen eine starke Entzündung der Schleimhaut mit der Folge eines unblutigen Durchfalls verursacht. Dadurch kann er erheblichen Schaden anrichten; infizierte Ferkel leiden an Flüssigkeits- und Gewichtsverlust und kümmern in Folge der Infektion. Die Verbreitung des Parasiten ist in der intensiven Schweineproduktion weltweit ein Gesundheits- und Produktionsfaktor. Erste Versuche haben gezeigt, dass eine Infektion von Sauen mit diesem Parasiten vor der Geburt das mütterliche Immunsystem zur Bildung spezifischer Antikörper stimuliert, dass diese mit dem Kolostrum (Biestmilch) auf die Ferkel übertragen werden und dass Ferkel mit hohem Antikörperspiegel vor den Auswirkungen einer Infektion teilweise geschützt sind. Die geplanten Versuche zur Möglichkeit der maternalen Immunisierung gegen *C. suis* sollen zeigen, ob eine Immunisierung von Sauen unter experimentellen Bedingungen ausreichend Schutz für die Ferkel bietet. Da eine Vakzinierung neugeborener Ferkel aufgrund des nur unvollständig entwickelten Immunsystems dieser Tiere nicht zielführend ist, soll die Möglichkeit der Sauenimmunisierung und passiven Übertragung von Komponenten des Immunsystems mit der Biestmilch (Kolostrum) geprüft werden. Dafür werden im ersten Teil der Untersuchungen Läuferschweine nach unterschiedlichen Protokollen immunisiert, um die effektivste Technik zu erproben. Danach werden mit dem optimierten Protokoll Sauen vor der Geburt immunisiert und der Schutz der Ferkel vor experimenteller Infektion untersucht.

zu erwartender Nutzen:

Eine Impfung könnte eine verbraucherfreundliche und nachhaltige Alternative zur derzeit angewandten Chemotherapie darstellen. Die beantragten Versuche sind Grundlage einer Impfstrategie und Impfstoffentwicklung.

zu erwartender Schaden für die Tiere:

Da Schweine über 1 Monat an einer Infektion mit *C. suis* nicht erkranken, wird bei Läufern und Sauen keine Klinik aufgrund der Infektion erwartet. Saugferkel entwickeln nach experimenteller Infektion vorübergehend unblutigen Durchfall, der zu Flüssigkeitsverlust und Gewichtsabnahme ohne Beeinträchtigung der Sauglust führt. Die Erfassung der immunologischen Parameter erfordert Blutabnahmen (max. 5% des Körpergewichts) und bei den Läufern und Ferkeln die Tötung zur Entnahme von Organen am Ende des Versuchs.

2. Art und Anzahl der Tiere

Teil 1: Läuferschweine, 10 Wochen alt, 130 Stück (Gruppengröße: 13 Tiere/Gruppe; versch. Immunisierungsprotokolle); Teil 2: Sauen und ihre Würfe (Saugferkel; konventionelle Aufzucht): 12 Würfe, 6 Würfe/Gruppe.

3. Erfüllung der "3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Da *C. suis* nur Schweine infiziert ist diese Tierart das einzige verfügbare Modell. Es gibt kein In-VitroKultivierungssystem, in dem Immunreaktionen gegen *C. suis* getestet werden können. Saugferkel sind die Zieltiere für alle Behandlungskonzepte gegen *C. suis*, auch wie im vorliegenden Fall bei der Immunisierung der Muttertiere.

Verminderung: Die Gruppengrößen wurden aufgrund der bereits veröffentlichten Versuche zur Immunisierung von Sauen mit 13 Tieren/Gruppe errechnet. In Versuch 1 werden 10 verschiedene Immunisierungsprotokolle (incl. 2 Kontrollgruppen) verwendet. Es wird angenommen, dass die Unterschiede zwischen den Gruppen in Versuch 1 eine Entscheidung zulassen, welches Immunisierungsregime das geeignetste ist. Mit diesen Voruntersuchungen mit Datenerhebung an Einzeltieren soll das beste Immunisierungsregime festgelegt werden. Dadurch reduziert sich die Gruppenanzahl im Folgeversuch auf 2 Gruppen, die Immunisierungs- und die Kontrollgruppe. Dabei werden die Sauen bzw. die Würfe als statistische Einheit angesehen. Durch Austausch von Ferkeln

innerhalb der Gruppen soll die Anzahl der benötigten Würfe reduziert werden. Auf eine nicht infizierte Kontrolle wird im 2. Teil verzichtet, da dazu aus einer früheren Studie bereits Daten vorhanden sind. Alle Sauen werden aus dem gleichen Betrieb bezogen, dadurch wird sichergestellt, dass die Tiere im Lauf ihres Lebens vergleichbaren Bedingungen (z. B. vorheriger Kontakt mit *C. suis*) ausgesetzt waren. Eingeschlossen werden nur Tiere, die (bis auf die Erscheinungen der experimentell induzierten Durchfallerkrankung) klinisch gesund sind. *Verfeinerung:*

1. Teil, Immunisierung von Läufern: Ferkel werden mit 10 Wochen angeliefert, in Flatdecks verbracht und immunisiert. Die Haltung in den Flatdecks erfolgt bis zum Ende der möglichen Ausscheidungsphase, d.h. für 14 Tage. Dies ist notwendig, um Kontaminationen mit Parasiten und ungewollte Infektionen anderer Gruppen zu vermeiden. Eine kleine Menge Stroh wird zur Beschäftigung der Tiere in die Flatdecks gegeben. Tiere, bei denen keine Parasitenausscheidung erwartet wird, werden im Schweinestall des Instituts (Betonboden mit Stroh, Auslauf, Spielzeug) oder im für die Schweinehaltung eingerichteten Kontumazstall der Universität gruppenweise aufgestellt.
2. Teil, Sauenimmunisierung: Die Sauen erhalten Stroh zur Beschäftigung und als Liegematerial. Die Ferkel verbleiben bei der Muttersau bis zum Ende des Versuchs, der Ferkelbereich ist ebenfalls mit Stroh sowie einer Wärmelampe (Rotlicht) im Nestbereich versehen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Durch einige Faktoren, sowohl extrinsischer als auch intrinsischer Natur kann die Neurogeneserate im Organismus beeinflusst werden. So können physische Aktivität, kognitives Training und genetische Faktoren zu höheren Neurogeneseraten führen, wohingegen Stress, neurodegenerative Erkrankungen und Alter die Neurogeneserate erniedrigen. Ziel dieser Studie ist es, herauszufinden welche Rolle spielt die Galanin in der adulten Neurogenese im jungen und im alten Tier und wie wirkt sich das Fehlen der Galaninsignalübertragung auf Lernen und Gedächtnis aus.

2. Art und Anzahl der Tiere

160 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da es sich bei diesen Versuchen um Verhaltensanalysen und Lernen der Mäuse in Bezug auf adulte Neurogenese geht, kann dies nur in vivo untersucht werden. Um eine ausreichende statistische Analyse im Anschluss an die Experimente durchführen zu können, darf eine gewisse Anzahl an Versuchstieren nicht unterschritten werden. Nur dann kann aus den Versuchsergebnissen eine fundierte Aussage über die erhobenen Daten getroffen werden. Durch die Nutzung standardisierten Tests können wir die Anzahl von Tiere minimieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Demyelinisierungserkrankungen, wie MS sind schwere Erkrankungen des ZNS, für die es bis jetzt nur sehr wenige Therapien gibt, die auch nur bedingt Erfolge liefern und den Krankheitsverlauf maximal nur verzögern. Eine Remyelinisierung ist essenziell für die Regeneration dieser Erkrankungen und die Verbesserung der entsprechenden Symptome. Zum aktuellen Zeitpunkt sind Perizyten noch nicht als ein Myelin regenerierender Zelltyp beschrieben worden. Ausschließlich eigene Vordaten belegen ein solches Potential dieses Zelltyps. Ziel dieses Tierversuchs ist es, die regenerative Rolle von Perizyten bei Demyelinisierungserkrankungen mit Hilfe von Mäusen, die eine geringere Perizyten-dichte aufweisen, im Vergleich zu Wildtypmäusen zu bestätigen. Im Detail werden dabei myelinbildenden Zellen des zentralen Nervensystems (ZNS) während der Remyelinisierung (=Regeneration von Myelin) in einer gesunden Maus im Vergleich zu einer Maus mit Perizyten-defizienz untersucht. Aufgrund unserer Hypothese, dass Perizyten maßgeblich an der Remyelinisierung und damit Interaktion/Reifung der myelinbildenden Zellen beteiligt sind, wird im Besonderen der Reifungsprozess bzw. Reifungsgrad der myelinbildenden Zellen untersucht werden. Des Weiteren wird die Dicke der Myelinscheiden bei der Remyelinisierung der beiden Versuchsgruppen verglichen, welche bei den transgenen Tieren dünner sein sollte, wenn Perizyten hierbei eine Rolle spielen.

zu erwartender Schaden: Der zu erwartende Schaden des Tierversuches beschränkt sich auf leichte Wundschmerzen nach der lokalen Injektion von Lysolecithin, die schnell abklingen und nach dem Eingriff mit Buprenorphin behandelt werden, um die Tiere möglichst schmerzfrei zu halten.

zu erwartender Nutzen: Der Nutzen dieses Tierversuchs ist es, in Zukunft das Potential dieser perivaskulären Zellen (Perizyten) für die Entwicklung von Therapien für Demyelinisierungserkrankungen (z.B. Multiple Sklerose (MS)) zu verwenden.

2. Art und Anzahl der Tiere

16 C57Bl/6J Mäuse, 16 C57Bl/6J PDGFB ret/ret Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Mit unseren in vitro Experimenten konnten wir das Remyelinisierungspotential von Perizyten definitiv zeigen, und bereits durchgeführte in vivo Experimente haben diese in vitro Daten bestätigt und gezeigt, dass Perizyten in den Remyelinisierungsprozess involviert sind. Um endgültig die Rolle von Perizyten in der Remyelinisierung zu bestätigen, wird in dem beantragten Demyelinisierungsversuch deren Rolle in einem Tier mit reduzierter Perizytenanzahl untersucht. Der beantragte Tierversuch ist essenziell, um in künftigen Forschungsarbeiten neue Zelltherapieansätze für Patienten mit Demyelinisierungserkrankungen entwickeln zu können.

Verfeinerung: Ohne diesen Tierversuch ist es ethisch nicht vertretbar Zelltherapien zu entwickeln. Um eine möglichst geringe Beeinträchtigung der Versuchstiere zu erzielen, wird in diesem Tierversuch kein allgemeines Demyelinisierungsmodell verwendet, was motorische Defizite mit sich bringen würde, wie auch Schmerzen und hätte den Nachteil, dass die Läsionen in Art, Größe und Lokalisierung von Tier zu Tier unterschiedlich wären. In diesem Tierversuch wird hingegen eine lokale Demyelinisierung induziert, die eine genauere Analyse der lokalen Läsion ermöglicht und keine motorische Beeinträchtigung, sowie nur geringe Schmerzen unmittelbar nach der Injektion hervorruft.

Verminderung: Die Versuchsplanung ist auf eine Minimierung der Versuchstiere ausgelegt, daher wird ein lokales Demyelinisierungsmodell verwendet, das die Verwendung von 2 Kontrollgruppen, welche je 8 Tiere umfassen würde, überflüssig macht. Bei diesem lokalen Demyelinisierungsmodell wird das Gewebe der behandelten Tiere an einer anderen Stelle, an der sich keine Läsion mehr befindet, als Kontrolle untersucht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel des Projekts ist es eine neue Methode zur Feststellung von Fettanlagerung bei Zugvögeln zu testen. Die Methode beruht auf einer Analyse von Blutplasma, wo das Vorhandensein bestimmter Metaboliten anzeigt ob ein Vogel aktiv Fett für den Zug anlagert oder nicht. Dazu wird Vögeln, die im Rahmen des Standardfangs mit Netzen gefangen, Blut abgenommen, das dann später im Labor analysiert werden kann. Das Ziel dieser Methode ist es, den Wert einer Lokalität für ziehende Vögel festzustellen. Die gewählte Beringungsstation ist der ideale Ort um die Methode zu testen, da es dort genug Wiederfänge gibt, womit man die gemessenen Metaboliten im Blut mit der tatsächlichen Gewichtszunahme vergleichen kann.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung einer neuen Methode um standardmäßig den Wert einer Lokalität für ziehende Vögel festzustellen und vogelartspezifische Unterschiede bezüglich Ansprüche an den Rastplatz zu evaluieren. Daneben ist es mit dieser Methode möglich die unterschiedlichen Zugstrategien von Vogelarten zu vergleichen.

zu erwartender Schaden: Die Entnahme von Blutproben aus der Armvene ist ein Standardverfahren und beeinträchtigt die Vögel kaum. Auch die Menge an Blut die benötigt wird, ist sehr gering, und der Blutverlust sollte kaum einen Einfluss auf den Vogel haben. Es wird daher erwartet, dass die Blutabnahme zu einer kurzzeitigen geringen Belastung der Vögel führt.

2. Art und Anzahl der Tiere

300 Sumpfrohrsänger- und 200 Schilfrohrsängerindividuen (alternativ 200 Drosselrohrsänger) werden zur Blutentnahme verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Diese Methode wurde noch nie in einer Feldstudie untersucht. Stichprobengröße wird an die Häufigkeit der Vogelart und den Erklärungswert der Ergebnisse angepasst.

Verminderung: Da die Vögel auf der Beringungsstation sowieso standardmäßig gefangen werden, stellt der Fang keine zusätzliche Beeinträchtigung für die Vögel dar.

Verfeinerung: Im Unterschied zu Standardberingungsverfahren (Entnahme nach 60min) werden die Vögel sofort nach dem Fang aus dem Netz entnommen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Lungenkarzinom ist mit einer Fünfjahresüberlebensrate von ungefähr 15% die häufigste Krebstodesursache weltweit. Durch genom-weite Genexpressionsanalysen wurde eine Vielzahl von Genen identifiziert, die in primären Tumoren von Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) inaktiviert sind. Neben genetischen Veränderungen sind auch chemische Veränderungen der DNA, insbesondere die DNA-Methylierung, an diesem Prozess beteiligt. In einem kürzlich durchgeführten Projekt konnten wir ~500 Gene identifizieren, die bei NSCLC Patienten tumorspezifisch methyliert sind. Während einige dieser Gene bereits als Tumor Suppressor Gene (TSG) beim NSCLC bekannt sind, ist die Funktion des Großteils dieser Gene jedoch unbekannt. Da die Identifizierung neuer TSGs von enormer Wichtigkeit für ein besseres Verständnis der Pathogenese des NSCLC ist, werden in diesem Projekt ausgesuchte Gene funktionell charakterisiert. Wir konnten in Zellkulturen zeigen, dass die Aktivierung bestimmter Gene das Wachstum von NSCLC Zellen im Vergleich zu Kontrollzellen deutlich verlangsamt. Diese Gene sind daher potentielle TSGs und sollen nun in *in vivo* Experimenten weiter untersucht werden. Insgesamt erwarten wir, dass die Ergebnisse dieses Projektes zu einem besseren Verständnis der Pathogenese des NSCLC beitragen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Prüfung von 4 Kandidatengenen beantragen wir insgesamt 130 immundefiziente Nacktmäuse (Crl:NU-Foxn1^{nu}) unter besonderen Hygienemaßnahmen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Alle Experimente werden so geplant und durchgeführt, dass sowohl die Anzahl der Versuchstiere (nach Berechnung der notwendigen Fallzahl), als auch die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich gehalten wird. Sollten wir bei unseren Experimenten den beschriebenen Effekt nicht sehen, wird der Versuch frühzeitig abgebrochen um unnötige Belastungen der Versuchstiere zu vermindern. Die Haltung der Tiere sowie das methodische Vorgehen erfolgt unter höchst möglicher Standardisierung, um die Streuung der Ergebnisse so gering wie möglich zu halten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2019 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Nutzens und Schadens.

In diesem Projekt wollen wir - unter Berücksichtigen von 3R - die Rolle des von uns untersuchten Proteins in der Milchdrüse klären. Weiterhin planen wir seine Auswirkungen auf das primäre Tumorwachstum und die Metastasierung von Mammakarzinomen zu untersuchen. Metastasen von Mammakarzinomen entstehen primär in den regionalen Lymphknoten und nur sekundär in entfernten Organen. Durch invasives Wachstum überwinden Tumorzellen zunächst die epitheliale Basalmembran der Milchdrüse, migrieren anschließend durch fibrotisches Gewebe und dringen dann ins Gefäßsystem ein. In den Lymphgefäßen angekommen bilden sie kleine Zellaggregate, welche sich im subkapsulären Sinus des Lymphknotens festsetzen und invasiv in das Lymphknotenparenchym einwachsen. Zuletzt breiten sich Krebszellen systemisch über efferente Lymphgefäße oder lymphknotenansässige Blutkapillaren auf distale Lymphknoten und lebenswichtige Organe aus, weshalb die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen zur Bildung von Lymphknotenmetastasen therapeutische Angriffspunkte zur Bekämpfung von tödlichen Organmetastasen darstellen. Das von uns untersuchte Protein ist sowohl für Milchdrüsenepithelzellen als auch Tumorzellen ein potenzielles Adhäsionsprotein und wird entlang der gesamten Metastasierungsrute von verschiedenen Stromazellen präsentiert.

Mit Anlehnung an Paget's „Seed and Soil“ Theorie, die besagt, dass sich ähnelnde molekulare Beschaffenheiten von Ursprungs- und Zielorganen die Metastasierung fördern, haben wir die Hypothese aufgestellt, dass die Omnipräsenz und die potentiell konservierte Interaktion von dem von uns untersuchtem Protein mit Krebszellen das Tumorwachstum und die lymphatische Metastasierung von Mammakarzinomen begünstigt. Diese Studie wird wichtige Einsichten über die pathophysiologischen Mechanismen der Tumorprogression eröffnen und sollte potentielle Therapieansätze für die Behandlung von metastatischen Brustkrebserkrankungen liefern.

Nutzen: Erhalt neuer Erkenntnisse, vor allem im Bereich der Milchdrüsenphysiologie und Pathophysiologie der humanen Krebserkrankungen.

Schaden: die Mäuse werden durch Zucht, sowie durch experimentelle Prozeduren (Transplantation von Milchdrüsengewebe, sowie Induktion von metastasierenden Tumoren) belastet.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere.

Wir planen insgesamt 4263 Tiere zu verwenden.

Bis zu 350 Tiere werden dabei Belastungen ausgesetzt, die als „schwer“ einzustufen sind.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Vermeidung: Es wurden von unserer Gruppe bereits zahlreiche in-vitro und ex-vivo Analysen der Milchdrüse und der Interaktion von Krebszellen mit dem von uns untersuchten Protein durchgeführt. Diese Analysemethoden sind nun an ihre Grenzen gestoßen. Aus diesem Grund ist der Schritt zu Untersuchungen am lebenden Tiermodell notwendig, um die bisher gewonnenen Daten in einem reaktionsfähigen Organismus zu bestätigen und deren systemische Bedeutung für die Metastasierung von Mammakarzinomen zu erfassen.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird mittels Standardisierung der Versuchsbedingungen so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Experimentelle Eingriffe werden so schonend wie möglich von Experimentatoren/Kooperationspartner verschiedener Fachgebiete durchgeführt, die umfangreiche Erfahrung mit der jeweils erforderlichen experimentellen Arbeit haben. Engmaschige Kontrollen erlauben eine schnelle Diagnose von Schmerzen und führen umgehend zur Schmerzbehandlung. Kriterien für den Abbruch des Versuchs sind klar definiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2021 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In diesem Projekt werden männliche Mucopolysaccharidose IIIA (MPS IIIA, Sanfilippo-Syndrom) Mäuse ab einem Alter von 4 Monaten für 5 Wochen zwei Mal wöchentlich intranasal mit einem Protein behandelt werden. Zusätzlich werden die Tiere subkutan mit Chlorphenamin vorbehandelt um anaphylaktische Reaktionen durch das Protein zu verhindern. Am Ende der Behandlung werden die Tiere euthanasiert und Gewebe für biochemische und histologische Analysen entnommen. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz durch die intranasale Applikation von den Riechzellen direkt aufgenommen wird und daher im Gehirn der Tiere nachweisbar ist. Die Applikationsroute sollte daher den Transport der Substanz ins Gehirn erleichtern, da die Blut-Hirn-Schranke nicht überwunden werden muss.

Das Sanfilippo-Syndrom ist eine seltene, angeborene, autosomal rezessive lysosomale Stoffwechselerkrankung. Sie gehört zu den Mucopolysaccharidosen, einer Gruppe von Störungen des Abbaus von langkettigen Zuckermolekülen, den Glykosaminoglykanen. MPS IIIA wird durch eine Mutation im SGSH Gen verursacht das zu einem Mangel an N-Sulfoglukosamin Sulfohydrolase Enzym führt. Dieser Mangel wiederum führt zur Ablagerung von nicht abgebautem Heparansulfat, einer Vergrößerung von Lysosomen und Zell- und Organversagen. Betroffene Kinder sind bei Geburt noch unauffällig. Ab dem dritten bis vierten Lebensjahr verzögert sich die geistige Entwicklung und ein aggressives, extrem unruhiges Verhalten (Hyperaktivität) tritt auf. Im Alter von ca. 20 Jahren tritt die Verhaltensstörung in den Hintergrund und wird durch eine zunehmende spastische Lähmung abgelöst. Die meisten Patienten versterben bereits in der zweiten Lebensdekade. Es ist hauptsächlich das Gehirn betroffen. Die Patienten sind in der Regel normalwüchsig und haben wenig Skelettauffälligkeiten. Eine ursächliche Therapie gibt es nicht, so dass die Behandlung rein symptomatisch ist. Durch die vorliegende Studie soll daher die Applikationsroute eines neuen Medikaments gegen die Krankheit im Tiermodell getestet werden. Nach erfolgreichem Abschluss der Studie soll die Substanz möglichst schnell in klinischen Studien und somit am Patienten auf ihre Wirksamkeit untersucht werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 8 MPS IIIA Mäuse beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Testung neuer Substanzen gegen Mucopolysaccharidose ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Versuchsziel ist die Untersuchung von heterolog in *Xenopus laevis* Oozyten exprimierten Ionenkanalproteinen. Es handelt sich dabei um eine etablierte Standardmethode, die seit vielen Jahren weltweit angewendet wird. Der Zweck des Antrages betrifft Untersuchungen an sogenannten Ionenkanalproteinen, die unter anderem im Herzmuskel eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Arrhythmien spielen oder in Nervenzellen die Erregungsleitung bewirken.

zu erwartender Nutzen:

Der Oozyt ersetzt praktisch z.B. eine Nerven- oder eine Herzmuskelzelle und erlaubt dadurch detaillierte Studien der physiologischen Funktion verschiedener Kanalproteine bzw. deren Fehlfunktionen bei Erkrankungen des kardiovaskulären bzw. des zentralnervösen Systems. Die Erkenntnisse dieser Arbeiten liefern signifikante Beiträge zum tieferen Verständnis der Funktion dieser Proteine, daneben können die Ergebnisse dieser Arbeiten zur Entwicklung neuer, nebenwirkungsärmerer Arzneistoffe führen, ohne dass dafür Versuche am lebenden Tier durchgeführt werden müssen. Durch intensive Studien mit derartigen Modellsystemen kann die Zahl der Tierversuche in Zukunft erheblich reduziert werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere:

Die Entnahme der Oozyten erfolgt unter tiefer Narkose über einen maximal 0.5 cm langen abdominalen Schnitt. Nach Entnahme der Zellen wird der Wunde mit resorbierbaren Nahtmaterial gründlich geschlossen und regelmäßig desinfiziert. Die Wundheilung erfolgt rasch innerhalb weniger Tage.

2. Art und Anzahl der Tiere

250 Afrikanische Krallenfrösche (*Xenopus laevis*)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Es kann auf aufwendige Demonstrationsversuche an Tieren verzichtet werden. Der Oozyt ersetzt praktisch z.B. eine Nerven- oder eine Herzmuskelzelle.

Verminderung: Die präparierten Oozyten werden fallen in ausreichender Anzahl an. Sie werden jedoch keinesfalls verworfen, sondern von mehreren Wissenschaftlern verschiedener Labors mit verwendet. Dieses Aufteilen der Oozyten führt zu noch erheblicheren Einsparungen an Tierversuchen.

Verfeinerung: Durch die rein operative Entnahme der Zellen können die Tiere mehrmals nach ausreichender Erholungsphase wieder verwendet, wodurch die Zahl der betroffenen Tiere signifikant gesenkt werden kann. Zusätzlich kann durch die Verwendung von automatischen Technologien in den letzten Jahren wurde die Datenausbeute/Oozyt erheblich gesteigert werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Projektes ist gemäß § 5 des TVG 2012 die Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen.

Die Versuche wurden gemäß internationaler Guidelines zur Stabilitätstestung neuer biotechnologischer Substanzen ausgearbeitet. Die Versuche bedingen keine Operationen. Die Belastung der 450 eingesetzten Mäuse wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

450 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten. Dem 3R-Konzept wird durch die Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Gefäßinnenwand (Endothel) spielt eine wichtige Rolle für die physiologische Regulation der Gefäßspannung, der Gefäßwandzusammensetzung und der Anlagerung von Entzündungszellen und Blutplättchen. Insbesondere nach dessen Schädigung wird die Bedeutung des Endothels ersichtlich, wenn es statt zu vollständiger Regeneration zur Bildung von sogenannter Neointima kommt (überschießende Ausbildung glatter Muskelzellen, Infiltration mit Entzündungszellen und Thrombozytenadhäsion). Zu einer Gefäßendothelschädigung kommt es unter anderem insbesondere bei medizinischen Interventionen (z.B. Stent-Implantation, Ballon-Dehnungen, Venentransplantation), durch Bluthochdruck, erhöhte Blutfettwerte und Diabetes mellitus, sowie der daraus folgenden Arteriosklerose. Durch die heute limitierten medikamentösen und interventionellen Therapiemethoden besteht auf diesem Gebiet ein großer Bedarf an innovativen Behandlungsmethoden.

Die Regeneration am Gefäßendothel wird unter anderem über den sogenannten DPP4-Signalweg reguliert. In Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass durch die Einwanderung von im Blut zirkulierenden Vorläuferstammzellen (zirkulierende Progenitorzellen) die Gefäßheilung unterstützt werden kann. Ein weiterer Signalweg der DPP4 ist der GLP1-Signalweg (Glucagon-like-Peptide 1). Mithilfe eines genetischen GLP1-Rezeptor-knock-outs (Fehlen des GLP1-Rezeptors durch genetische Veränderung der Tiere) möchten wir die Endothelheilung durch zirkulierende Progenitorzellen detaillierter und isoliert untersuchen. Die DPP4 kann therapeutisch durch Gabe von Gliptinen (z.B. Sitagliptin) gehemmt werden. Ursprünglich werden die Gliptine zur Therapie von Patienten mit Diabetes mellitus genutzt, um den Blutzuckerspiegel u.a. durch verbesserte Insulinausschüttung zu senken. In Vorversuchen haben wir bereits gezeigt, dass durch Sitagliptin-Gabe die Gefäßheilung verbessert werden kann. In dem hier beantragten GLP1-ko-Modell möchten wir nun die Sitagliptin-Wirkung auf die stammzellvermittelte Gefäßheilung isoliert betrachten.

Bei der geplanten Methode der Carotid Injury handelt es sich um eine Methode, bei der die linke A. carotis communis (Halsschlagader) unter Narkose freigelegt wird, damit mit einem bipolaren Elektrokauter eine Verletzung entlang des Gefäßes gesetzt werden kann. Dies führt zu einer Ablösung des Gefäßendothels. Der technische Vorteil bei dieser Methode, im Vergleich zu anderen Operationsmethoden (z.B. Ballon-Dehnung oder Verletzung des Endothels mit einem HerzkatheterDraht) ist, dass hier eine exakt definierte Verletzungslänge erzeugt werden kann, deren Heilung so später genau bestimmt werden kann. Des Weiteren muss bei dieser Methode zu keiner Zeit während der OP der Blutfluss in der Halsschlagader unterbrochen werden, womit das intraoperative Schlaganfallrisiko deutlich gesenkt wird. Dies führt zu einer wesentlich geringeren Anzahl an benötigten Mäusen für den Versuch.

2. Art und Anzahl der Tiere

Geplant ist eine Gesamtanzahl von 605 Mäusen für einen Zeitraum von 5 Jahren.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da wir stets darauf bedacht sind, dem "3R" Konzept (Replacement, Reduction, Refinement) gerecht zu werden achten wir darauf dass sich die Tiere vor und während der Versuche unter tierschutzgerechten Haltungsbedingungen befinden. Um den Tieren möglichst angenehme Haltungsbedingungen zu ermöglichen, achten wir auf ausreichendes Enrichment zum Benagen und zur Beschäftigung der Tiere.

Des Weiteren wird perioperativ durch adäquate Analgetikagabe eine Schmerzfreiheit der Tiere gewährleistet. Zudem werden mindestens zweimal täglich in Verbindung mit der Analgetikagabe eingehende tierärztliche Untersuchungen vorgenommen. Hierbei wird das Befinden der Mäuse auch mit einem eigens für den Versuch konzipierten Scoring-Sheet bewertet. Dadurch wird eine übermäßige Belastung sehr frühzeitig erkannt und kompromittierte Tiere können so rechtzeitig aus dem Versuch genommen und schmerzlos getötet werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die verkalkende Verengung der Aortenklappe ist die häufigste Herzklappenerkrankung in der westlichen Welt. Eine fortschreitende Verengung der Klappenöffnungsfläche verhindert den regulären Blutfluss während der Kontraktion des Herzens. Dies führt zu einer vermehrten Arbeitsleistung für die linke Herzkammer. Eine Progression der Erkrankung kann in einem Herzversagen resultieren. In Zellkultur konnte gezeigt werden, dass valvuläre interstitielle Zellen (=VICs), der hauptsächlich vorherrschende Zelltyp auf Herzklappen, durch Entzündung, oxidativen Stress und unterschiedliche Stressmoleküle einen wesentlichen Beitrag zur Verkalkung leisten. Der genaue Mechanismus der Aortenklappenverkalkung bleibt jedoch weiterhin größtenteils unverstanden. Ein besseres Verständnis des Erkrankungsprozesses könnte neue Ziele für die Früherkennung und für die therapeutische Intervention aufdecken. Das angeborene Immunsystem erkennt Muster krankmachender Mikroorganismen und zielt darauf ab, sie unschädlich zu machen. In rezenten Arbeiten konnte gezeigt werden, dass das angeborene Immunsystem fälschlicherweise oftmals auch körpereigene Strukturen erkennt und somit aktiviert wird. Ob dieser Prozess auch bei der Entwicklung und Progression von Aortenklappenerkrankungen beteiligt ist, bleibt jedoch nach wie vor unverstanden.

zu erwartender Nutzen: Beginnende Aortenklappenstenosen sind bei einem Drittel der Bevölkerung über 65 nachweisbar. Das Endstadium der Erkrankung, die hochgradige Aortenklappenstenose, kann in Herzversagen inklusive aller Begleiterkrankungen resultieren und erfordert daher einen umgehenden chirurgischen Herzklappenersatz. Diese Operation findet am offenen Herzen statt und ist daher sehr belastend. Der Mechanismus der Entstehung der Aortenklappenstenose ist bis dato unbekannt. Therapeutische Alternativen die Krankheit in einem Frühstadium zu erkennen und eine Progression zu verhindern könnte daher vielen Menschen eine sehr belastende Herzoperation inklusive aller ihrer Komplikationen ersparen und sind daher von höchster klinischer Relevanz. Obwohl der Versuch mit einer Belastung der Versuchstiere einhergeht, könnten die daraus erworbenen Kenntnisse zur Vermeidung belastender Herzoperationen führen und die Lebensqualität erkrankter Menschen erheblich verbessern.

zu erwartender Schaden: Um sie zu untersuchen, werden gesunde Mäuse unterschiedlichen Alters auf die Expression verschiedener Immunrezeptoren untersucht. In einem nächsten Schritt werden genetisch veränderten Mäusen Aortenklappenverkalkungen induziert und untersucht, ob diese Klappen eine unterschiedliche Immunrezeptorenexpression aufweisen als gesunde Klappen. In einem letzten Schritt wird analysiert, ob man Aortenklappenverkalkungen positiv beeinflussen kann durch die Gabe von Immunrezeptoragonisten und Antagonisten als auch durch Immunrezeptor knock-out Mäuse. Dabei wird die Herzklappenfunktion mittels den humanmedizinischen Standardverfahren Magnetresonanztomographie (MRI) und Computertomographie (CT) gemessen. Für dieses Projekt werden 368 Mäuse verwendet. Es wird versucht, die Tierzahl möglichst gering zu halten. Bei jeglichem Anzeichen von Leiden werden die Tiere sakrifiziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 368 Mäuse verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise einen in vitro Verkalkungsassay, um Pathomechanismen der Verkalkung detaillierter aufzudecken.

Verminderung: Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wird der darauffolgende Schritt und daher die Verwendung weiterer Tiere durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird.

Verfeinerung: Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Haltung der Tiere erfolgt in Gruppenhaltung mit environmental enrichment. Die Tiere werden täglich visitiert und regelmäßig klinisch untersucht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist die Entwicklung eines Impfstoffes zur Vorbeugung von *Clostridium difficile* Durchfallerkrankungen. *Clostridium difficile* ist ein grampositives anaerobes Stäbchenbakterium und ein Hauptverursacher von nosokomialen Antibiotika induzierten Durchfallerkrankungen. Zur höchsten Risikogruppe zählen vor allem ältere Menschen, die unter antibiotischer Behandlung stehen. *C. difficile*-Infektionen können Symptome von milden Durchfall bis lebensbedrohlichem pseudomembranösen Colitis (Dickdarmentzündung) verursachen.

Der Schaden der Tiere liegt erheblich unter dem Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse. Die Immunogenitätssudien und Wirksamkeitsstudien des Impfstoffkandidaten werden in einem gut etablierten Maus Challenge Modell durchgeführt. Bei allen geplanten Experimenten ist die Belastung der Tiere als mittel einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 3100 Mäuse verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die CDAD des Menschen wird einem gut etablierten und international akzeptierten Mausmodell unter Berücksichtigung aller Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung erreicht. Für die Erhaltung aussagekräftiger Resultate basiert die Versuchstierzahl auf langjähriger Erfahrung und ist für eine statistische Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Plattenepithelkarzinome und Melanome gehören bei Mensch und Tier zu jenen häufigen Tumorarten, die trotz beachtlicher wissenschaftlicher Fortschritte nach wie vor nur schwer therapierbar sind, wobei Veterinärmediziner über ein noch eingeschränkteres Repertoire an therapeutischen Möglichkeiten als Humanmediziner verfügen.

Aufgrund der starken Nebenwirkungen und der teilweisen Ineffizienz herkömmlicher Behandlungsmethoden, wie etwa Chemo- oder Strahlentherapie, wird im Humanbereich vermehrt an der Entwicklung neuartiger, nebenwirkungsärmerer Strategien gearbeitet, die auf eine selektive Zerstörung von Tumorzellen unter aktiver Mitwirkung des körpereigenen Immunsystems abzielen.

Besonders auf onkolytischen Viren basierende Immuntherapeutika (Virotherapie) haben in letzter Zeit vielversprechende Ergebnisse in klinischen Phase 1/111 Studien geliefert. Das Wirkprinzip onkolytischer Viren basiert auf einer selektiven Virusreplikation in Tumorzellen und einer Virusinduzierten Zerstörung derselben (Onkolyse) sowie der Stimulierung einer antitumoralen Immunantwort gegen freigesetzte Tumorantigene.

Um das therapeutische Potential dieser nebenwirkungsarmen Form der Tumorthherapie voll ausschöpfen zu können, besteht allerdings noch ein erheblicher Innovations- bzw. Verbesserungsbedarf.

Aus diesem Grund haben wir ein neuartiges onkolytisches Virus entwickelt, welche potentiell zwei entscheidende Vorteile hat. Es sollte im Gegensatz zu anderen Viren auch nach wiederholter Gabe einen therapeutischen Effekt zeigen. Andererseits hat das Virus hohes Potential auch interferonsensitive Tumorzellen zu zerstören und damit die Ansprechraten bei Mensch und Tier signifikant zu erhöhen.

In diesem Tierversuch erfolgt die erste in vivo Evaluierung dieses neuartigen Therapeutikums. Und zwar soll die systemische, therapeutische Wirksamkeit in einem Melanommodell untersucht werden. Der zu erwartende Schaden besteht in der maximal mittelgradigen Belastung der Versuchstiere durch die Implantation und das Wachstum der Tumoren. Der zu erwartende Nutzen besteht in der Etablierung effizienterer Therapien für diese schwer zu behandelnden Tumorarten bei Mensch und Tier.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 51 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da einem intakten Immunsystem in dem von uns verfolgten Ansatz eine tragende Rolle zukommt ist die Durchführung eines Tierversuchs unabdingbar. Um die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich zu halten wurde die Gruppengröße mittels Fallzahlberechnung statistisch ermittelt. Durch standardisierte Versuchsbedingungen wird die Streuung der Ergebnisse minimiert. Die Verwendung eines etablierten Modells erlaubt den Vergleich mit bereits publizierten Daten. Der Gesundheitszustand der Mäuse wird über den gesamten Versuchsverlauf engmaschig überwacht. Bei Verdacht auf Schmerzen oder Beeinträchtigung werden sie dem Versuch entzogen. Weiters wird großer Wert darauf gelegt die Stressbelastung der Tiere so gering wie möglich zu halten. So wird z.B. die intratumorale Applikation des Therapeutikums unter Narkose durchgeführt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Kurse dienen dem Ausbildungstraining von Chirurgen in minimal-invasiv chirurgischen Techniken. An narkotisierten Schweinen werden verschiedene Routineoperationen von jungen Chirurgen durchgeführt um entsprechende Fertigkeiten für die Eingriffe an humanen Patienten am Tiermodell zu erlernen. Es handelt sich um Akutversuche mit einer sehr geringen Belastung der Tiere. Der Nutzen für den Patienten ist groß da technische Operationskomplikationen durch die Ausbildung der Chirurgen am Tier reduziert werden und auch die Operationszeiten reduziert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für das chirurgische Training für 3 Jahre 102 Schweine verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die chirurgischen Techniken werden zuvor an Ersatzmodellen trainiert (Replacement). Es ist aber anschließend notwendig die Operationen am lebenden Organismus durchzuführen. Es wird die minimale Anzahl an Tieren verwendet. Mehrere Chirurgen bilden ein Operationsteam und können die Eingriffe an einem Tier trainieren (Reduction). Die Versuche finden unter standardisierten Bedingungen statt (Refinement).

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Unterbringung der Kaninchen erfolgt sachgerecht im Tierhaltungsstall. Die Kaninchen werden vom Tierhaltungsstall im entsprechenden Tierkäfig nach Einleitung der Narkose in das Labor gebracht und dort den mikrochirurgischen Übungen unterzogen. Die mikrochirurgische Präparation an den Versuchstieren wird lediglich an einem Tag durchgeführt werden. Am Abend dieses Kurstages werden die Tiere sakrifiziert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) n = 12

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Nach derzeitigem Kenntnis- und Wissensstand sind mikrochirurgische Übungen am lebenden Tier durch nichts zu ersetzen, weil sie der Situation im Operationssaal und gerade für heikle und schwierige Mikrogefäßoperationen am Gehirn eine Voraussetzung sind, damit derartige Operationen überhaupt erfolgreich durchgeführt werden können.

Verminderung: Selbstverständlich gibt es mittlerweile Simulationsmodelle, welche aus Kunststoff hergestellt sind und in Form einer Plastikratte bzw. eines Silikonmodells als Einstieg in den Kurs dienen, um von dem Tiermodell am maximalsten zu profitieren. Durch diese Modelle kann selbstverständlich die Frequenz der Verwendung von lebenden Tieren drastisch reduziert werden.

Verfeinerung: Der Kurs hat in gradueller Weise von Tag 1 bis Tag 3 den Schwierigkeitsgrad erhöht insofern, als am Tag 1 und 2 nur an den oben genannten Simulationsmodellen trainiert wird, um die Kursteilnehmerinnen und Kursteilnehmer auf die Operation an den Tieren mit steigendem Schwierigkeitsgrad vorzubereiten. Dadurch gelingt es, das Tier nach entsprechender mit dem Landesveterinäramt abgestimmten Narkose so schonend wie möglich zu operieren. Eine Nachbeobachtung der Tiere war und ist nie vorgesehen, da es sich um einen reinen Tierversuch zu Übungszwecken handelt. Am Ende der Übung, das heißt etwa 6 Stunden nach Beginn der mikrochirurgischen Operationen, werden sämtliche Tiere ohne Aufwachversuch sakrifiziert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In den vergangenen Jahren wurden viele Studien zum kleinkalibrigen Gefäßersatz mit dezellularisierten, allo- oder xenogenen Spendergefäßen (sogenannte dezellularisierte Matrixprothesen) durchgeführt. Leider ist die Verwendung von xenogenen und allogenen Materialien Einschränkungen unterlegen. Bei allogenen Geweben ist die Gewinnung problematisch (hirntote Spender) und bei xenogenen Implantaten stellen potentielle biologische Sicherheitsrisiken wie Restimmunogenität und die Möglichkeit einer Übertragbarkeit von Krankheitserregern eine große Einschränkung ihrer Anwendung dar. In dieser Studie sollen Gefäßprothesen aus dezellularisierten Nabelschnurarterien aus menschlichen Plazenten hergestellt werden. Die Grafts sollen durch die Anwendung eines gewebschonenden Dezellularisierungsschemas präserviert werden. Dadurch sollen die Gewebsstrukturen der Prothesen besser erhalten bleiben und die Einwanderung von gewebespezifischen Zellen gefördert werden.

zu erwartender Nutzen: Es gibt derzeit keine Gefäßprothese für den kleinkalibrigen Gefäßersatz (<4-6 mm), die zufriedenstellende Offenheitsraten zeigt. Materialien, die eine bessere Biokompatibilität aufweisen, würden Reoperationen und Gliedmaßenamputationen reduzieren.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere vertragen die Implantationen gut. Es ist mit sehr geringen Ausfällen zu rechnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

60 Ratten

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die Versuche können nicht durch Ersatzmethoden ersetzt werden.

Verminderung: Es werden die minimalen Tierzahlen verwendet, die für eine statistisch repräsentative Aussage notwendig sind.

Verfeinerung: Die Untersuchungen finden unter standardisierten, reproduzierbaren Bedingungen statt. Das Modell der Aorteninterposition wird von erfahrenen Mikrochirurgen durchgeführt (keine technische Schwierigkeiten bei der Anastomosierung, kurze Implantationszeiten, fast keine Ausfälle).

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Chronische Niereninsuffizienz (CNI) stellt zunehmend eine Gefährdung der öffentlichen Gesundheit dar. Gegenwärtig sind weltweit, unabhängig von ethnischer Herkunft, 10% der erwachsenen Bevölkerung von einer chronischen Niereninsuffizienz betroffen - schätzungsweise benötigen 1,5 Mio. Patienten eine Nierenersatztherapie. Zur Entwicklung der CNI tragen multiple Faktoren, wie Infektionen, Medikamente, Toxine, mechanische Obstruktion, Autoimmun- oder genetische Erkrankungen bei. In den Industrienationen stellen jedoch Diabetes mellitus Typ-2 und der Bluthochdruck die häufigsten Ursachen für eine CNI dar.

Unabhängig von der Ursache kommt es bei CNI zur fortschreitenden Vernarbung der Niere. Durch den Prozess der sogenannten Fibrose kommt es zur vermehrten Ablagerung von Bindegewebe in der Niere - die die Niere versorgenden Gefäße, die harnproduzierenden Anteile (die Nierenkörperchen oder Glomeruli) und die harnableitenden Strukturen (Nierentubuli) werden zunehmend durch Bindegewebe ersetzt, gehen verloren und verlieren damit auch ihre Funktion. In der Folge wird weniger Harn produziert, die Ausscheidung von Toxinen wird eingeschränkt und die Niere erhält keine Nährstoffe aus dem Blutkreislauf. Dadurch schreitet die CNI bis zum totalen Verlust der Nierenfunktion fort, ein Endpunkt, der nur durch Nierenersatztherapie (Dialyse oder Transplantation) behandelt werden kann.

Die gegenwärtig verfügbaren Behandlungsmethoden einer CNI im Frühstadium sind rein symptomatisch und bestehen lediglich in der Optimierung der Kontrolle der bekannten Risikofaktoren, wie Hochdruck und Atherosklerose, unter Verwendung von Blutdruck- und Blutfett senkenden Medikamenten (ACE-Hemmer und Statine). Die Entwicklung neuartiger, auf den fibrotischen Prozess abzielenden Therapien erfordert jedoch ein besseres Verständnis des für die fortschreitende Nierenschädigung verantwortlichen molekularen Mechanismus.

Früher nahm man an, dass Fibrose eine Folge der CNI sei, neuere Erkenntnisse aus Tiermodellen von Nierenerkrankungen zeigen aber ihre ursächliche Rolle. So konnte gezeigt werden, dass bestimmte Zellen der Blutgefäße in der Niere (Perizyten, glatte Muskelzellen und Mesangialzellen), aber auch Zellen zwischen den Nierentubuli (Fibroblasten) bei CNI beginnen, vermehrt Faserproteine und damit Bindegewebe zu bilden. Diese Zellen haben in der Entwicklung der Gewebe denselben Ursprung, sind Abkömmlinge der sogenannten Nieren(renale)-Stromazellen und spielen bei der Entwicklung der Niere eine wichtige Rolle. Nach Abheilung einer akuten Nierenerkrankung, aber auch beim Krankheitsprozess der Fibrose kommt es oft zu fortschreitender Vernarbung der Niere, wobei man nicht unterscheiden kann, wie und warum aus den "einfachen, ruhenden" Stromazellen "aktive" Tochterzellen werden, die vermehrt Bindegewebe produzieren und damit die pathologischen Prozess verursachen. Die Identifizierung von (genetischen) "Markern", die diese Unterscheidung zuließen, würde neue Ansätze zur Untersuchung des Prozesses der Nierenfibrose und ihrer Therapie eröffnen.

Wir konnten in Vorarbeiten zeigen, dass ein Mitglied der GATA-Familie von Transkriptionsfaktoren (Moleküle in der Zelle, die an die DNA des Erbguts im Zellkern binden und die Produktion von Proteinen veranlassen) in allen von den Stromazellen abstammenden Zelltypen in der Niere gebildet wird. Um die Funktion des GATA Moleküls bei der Entwicklung und Aktivierung renaler Stromazellen zu untersuchen, möchten wir den Effekt des Fehlens des Gens, das für das Protein im Erbmateriale kodiert, bei Mäusen bestimmen. Die Analyse dieser Mäuse wird uns ermöglichen, die molekularen Mechanismen, die den GATA-Transkriptionsfaktor regulieren, zu identifizieren und Aufschluss über die bei CNI gestörten Zellprozesse geben. Wir erwarten, dass die Mäuse, in denen das GATA-Gen inaktiviert ist, vorerst in ihrer Entwicklung ohne Symptome bleiben, und sich die Folgen des Fehlens des Gens (sofern solche überhaupt feststellbar sind) erst in einem fortgeschrittenen Stadium feststellen lassen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen der vorgeschlagenen Untersuchungen werden im Zeitraum bis zu 3 Jahren insgesamt 155 Tiere benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Das Design der vorliegenden Studie erfolgte unter Berücksichtigung des Konzepts der 3 Rs. Wir werden konstant bemüht sein, die Anzahl von Tieren möglichst gering zu halten und diese durch andere, angemessene *in vitro* Methoden, z. B. Zellkulturversuche, zu ersetzen. Allerdings kann die Untersuchung der Rolle des GATA-Transkriptionsfaktors in der Niere nur in Mausexperimenten durchgeführt werden, da die genetische Inaktivierung dieses Gens ausschließlich in Mausmodellen verfügbar ist. Mäuse stellen das niedrigste Wirbeltier dar, das ein ausreichend hohes Maß an physiologischer und genetischer Ähnlichkeit mit Menschen aufweist.

Die Tieranzahl wurde mittels Durchführung statistischer Power-Analysen so niedrig wie möglich gehalten. Unsere vorangehenden Untersuchungen haben etabliert, dass Mittelwerte und Standardabweichungen typischerweise eine Gruppengröße von 6 -20 Tieren erfordern, um eine statistische Signifikanz zu erreichen. Diese Gruppengröße ist zur Erreichung der adäquaten statistischen Aussagekraft am besten geeignet, um weder Tierleben noch Geldmittel in den geplanten Experimenten zu vergeuden. Tierhaltung und Methodik der Versuche erfolgen unter standardisierten Bedingungen, um die biologische Variabilität der Ergebnisse zu minimieren.

Zur Minimierung jeglichen Stresses bei diesen Tieren werden wir sie sorgfältig beobachten und bei etwaigem Auftreten von Symptomen die Situation evaluieren. Bei Vorliegen von unzumutbarem Leid werden die Tiere auf humane Weise getötet. Die Mäuse werden in Gruppen in artgerecht ausgestatteten Käfigen (einschließlich Papier und Papprollen) gehalten, von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und von Veterinärmedizinerinnen überwacht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

zu erwartender Nutzen: Patienten mit Leberzirrhose entwickeln infolge verkleinerter Blutgefäße und reduziertem Blutfluss durch die Leber, einen Rückstau und Überdruck im Pfortadersystem (portale Hypertension). Daraufhin entwickeln sich Umgehungskreisläufe, welche die Entgiftungsfunktionen der Leber maßgeblich beeinträchtigen und zu schwerwiegenden Komplikationen führen können. Eine Therapie die den Pfortaderdruck senken kann, würde das Überleben dieser Patienten signifikant steigern. In zwei Tiermodellen werden zwei Substanzen auf gefäßerweiternde Effekte getestet und deren Wirkung auf das veränderte Lebergewebe untersucht (antifibrotische Effekte).

zu erwartender Schaden für die Tiere: Tetrachlorkohlenstoffgabe (mittels Fütterungssonde) bzw. eine operative Gallengangsligatur werden als international etablierte Zirrhosemodelle verwendet. Die operativen Eingriffe finden unter sterilen Bedingungen, Narkose und Schmerzmittelgabe statt. Somit werden Schmerzen und Belastung der Tiere reduziert. Nach Versuchsende werden die Tiere in tiefer Narkose schmerzfrei eingeschläfert.

2. Art und Anzahl der Tiere

240 männliche 8-10 wöchige (ca. 250g-300g schwere) Sprague Dawley Ratten

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Medikamentöse Wirkungen auf den Pfortaderdruck und das Lebergewebe können nur im Tier getestet werden bevor diese im Menschen Anwendung finden. Die Haltung der Tiere sowie die Durchführung der Studie erfolgt unter standardisierten Bedingungen, um die biologische Streuung der Ergebnisse herabzusetzen und somit die Zahl der Tiere zu vermindern. Für das Projekt wird basierend auf bisherigen Erkenntnissen und einer Fallzahlberechnung die kleinstmögliche Anzahl an Tieren beantragt, um eine wissenschaftlich signifikante Aussage treffen zu können. Die Belastung der Tiere wird durch Narkose und Schmerzmittelgabe gering gehalten. Die Tiere werden durch sachkundig geprüfte Tierpfleger betreut und stehen ständig unter tierärztlicher Aufsicht. Der Projektleiter und sein Team haben mehrjährige Erfahrung im Umgang mit Tierversuchen und den genannten Tiermodellen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Derzeit werden nahezu alle männlichen Ferkel chirurgisch ohne Betäubung kastriert, da es noch keine befriedigende praxistaugliche Alternative gibt. Ein optimales Betäubungs- oder Schmerzmittel für die Saugferkelkastration würde sich durch einen sehr schnellen Wirkungseintritt, eine sehr gute Schmerzausschaltung während und nach der Operation und eine nur kurze Nachschlafphase auszeichnen. In der geplanten Studie soll ein in der Humanmedizin für kurze Eingriffe verwendetes Opioid-Analgetikum für die Anästhesie bei der Saugferkelkastration untersucht werden. Das Präparat hat beim Menschen eine sehr kurze Halbwertszeit, da es rasch durch Esterasen abgebaut wird und die Abbauprodukte keine Wirkung mehr besitzen. Projektziel ist, die Schmerzausschaltung und Gewebeverträglichkeit des Präparates bei der chirurgischen Kastration von Saugferkeln nach intramuskulärer Applikation im Vergleich zu dem in der Schweinemedizin üblichen und mit einigen Nachteilen behafteten Anästhesieverfahren zu bewerten.

Zu erwartender Nutzen:

Zeigt das zu testende Opioid-Analgetikum, das in der Humanmedizin erfolgreich eingesetzt wird, die erwünschten Wirkungen auch beim Schwein, so steht damit ein Präparat zur Verfügung, mit dem in Zukunft die Kastration männlicher Ferkel einfach unter Schmerzausschaltung durchgeführt werden könnte. Diese Möglichkeit ist derzeit in der Schweineproduktion nicht gegeben.

Zu erwartender Schaden für die Tiere:

Zu Beginn des Experimentes können bei Erarbeitung der geeigneten Dosierung für das Arzneimittel beim Ferkel unerwünschte Wirkungen, wie Atmungs- und Kreislaufbeeinträchtigungen auftreten.

2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere:

Für dieses Projekt werden zunächst geeignete Dosierungen des Opioid-Analgetikums nacheinander an 10 männlichen Saugferkeln erarbeitet und die Gewebeverträglichkeit getestet. Verläuft dieser Vorversuch erfolgreich, erfolgt an 50 männlichen Ferkeln die Kastration mit entweder einem herkömmlichen Narkoseverfahren (25 Tiere) oder nach Gabe des zu testenden Opioid-Analgetikums (25 Tiere).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung:

In einem mehrstufigen Versuchsaufbau wird zusätzliches Leiden vermieden, da der Versuch abgebrochen werden kann, wenn bereits Leiden bei den ersten Ferkeln im Vorversuch auftritt.

Verminderung:

Die Stichprobengröße von 25 Tieren in jeder Gruppe ist möglicherweise nicht groß genug, um kleine Effekte sichtbar zu machen (Unterschiede in der Cortisolkonzentration als Stressparameter). Dies wird jedoch in Kauf genommen, bzw. eine Reduktion der Versuchstiere verwirklicht, da weitere Parameter zur Beurteilung von Schmerz und Tierwohl hinzugezogen werden. Nur ein großer Effekt wird als Kriterium für einen Nutzen des Präparates gewertet, da nur dann ein praktischer Nutzen zur allgemeinen Verringerung von Tierleid in der Schweineproduktion erwartet werden kann.

Verfeinerung:

Um den Saugferkeln unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden alle erforderlichen Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen. Die Haltungs- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Die Schweine werden mit ihren Wurfgeschwistern bis zum Absetzen gehalten. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Schweine haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert. Die Hauptbelastung für die Ferkel

wird das zweimalige Wiegen, die dreimalige Blutprobenentnahme und die individuelle Kennzeichnung durch Ohrmarken sein.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist es den Impfstoff zum Schutz einer Maserninfektion zu überprüfen. Der Masern-Virus ist eine der führenden und durch Impfung vermeidbare Erkrankung bei Kindern weltweit. Masern sind eine äußerst ansteckende Infektionskrankheit, die durch Viren hervorgerufen wird. Sie geht mit einem charakteristischen Hautauschlag einher und kann durch mehrere Komplikationen zum Tod führen. Bei einer ungeimpften Bevölkerung stellt die typische Kinderkrankheit eine der fünf Haupttodesursachen in Krisensituationen dar. Jedes Jahr sterben weltweit mehr als eine Million Kinder an Masern, die meisten von ihnen in ärmeren Ländern.

Der Schaden der Tiere liegt erheblich unter dem Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse. Die Immunogenitätsstudien und Wirksamkeitsstudien des Impfstoffkandidaten werden in einem gut etablierten Cotton-Rat Modell durchgeführt. Bei allen geplanten Experimenten ist die Belastung der Versuchstiere als gering einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden innerhalb von zwei Jahren maximal 1750 Cotton Rats (Neuweltmäuse) verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Testung des Masern Impfstoffes wird in einem gut etablierten und international akzeptierten Cotton Rat Model unter Berücksichtigung aller Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung erreicht. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten basiert die Versuchstierzahl auf langjähriger Erfahrung und ist für eine statistische Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Maligne oder bösartige Krebserkrankungen sind trotz verbesserter medizinischer Vorsorge und Behandlungsmethoden für über 20 % der Todesfälle in den Ländern der westlichen Welt verantwortlich. Etablierte Behandlungsmethoden, wie chirurgische Entfernung des Primärtumors mit anschließender Radio- und Chemotherapie, stoßen insbesondere bei therapieresistenten oder bei inoperablen bzw. bereits metastasierten Tumoren an ihre Grenzen. In der medizinischen Forschung wird daher fieberhaft nach neuen, wirksameren Behandlungsmethoden gesucht. Die Gentherapie stellt dabei eine versprechende Option dar: Zum Beispiel kann die Expression eines therapeutisch hoch wirksamen Proteins oder die selektive Translationsunterdrückung von für die Tumorzelle essentiellen Proteinen vor Ort bereits ausreichen, um Tumore nachhaltig zu schädigen.

Die Wirkung wird gezielt im Tumorgewebe entfaltet, das gesunde Gewebe hingegen wird kaum oder gar nicht geschädigt. In den vorliegenden Studien sollen nun der sichere und zielgerichtete Transport von therapeutischen Genen mittels neuartiger Gentransfersysteme in das bösartig entartete Gewebe, deren Verteilung sowie Wirksamkeit im Körper in Kombination mit Chemo- oder Immuntherapien evaluiert werden. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Entwicklung von neuen Therapien für bereits metastasierte und bis dato nicht behandelbare Tumore.

zu erwarteter Nutzen: Erweisen sich die neuartigen Therapieansätze im Tierversuch als therapeutisch erfolgreich und gut verträglich sind deutliche Fortschritte in der Krebstherapie für Mensch und Tier (Veterinärmedizin) zu erwarten.

zu erwarteter Schaden für die Tiere: Eine Beeinträchtigung des Wohlbefindens der Tiere ist ggf. durch die Applikation der Tumorzellen bzw. der zu testenden Verbindungen zu erwarten. Ein weiterer Belastungsfaktor kann die Inhalationsnarkose zur Immobilisierung der Tiere während der diagnostischen Bildgebung darstellen. Da die Applikation von Tumorzellen und Verbindungen minimal invasiv und ggf. unter Narkose erfolgen ist die Belastung allerdings als gering einzustufen. Gleiches gilt für die Narkose per se, die durch schnelle Einleitung und kurze Dauer schonend durchgeführt wird. Die Testverbindungen sind nicht toxisch und gut verträglich. Da die Tiere vor Erreichen einer kritischen Tumorload schmerzlos getötet werden ist auch durch die Tumorzellen zu Lebzeiten keine Beeinträchtigung zu erwarten.

Gewisse Ergebnisse und Kenntnisse lassen sich bereits in der Zellkultur ermitteln. Die Wirkung und Verteilung im Organismus jedoch kann aufgrund der Komplexität der ablaufenden Prozesse bis heute nur im Säugetier modelliert und damit sinnvoll evaluiert werden. Einerseits ist für die Maus bereits eine Vielzahl ausgezeichneter charakterisierter Modelle beschrieben und andererseits lassen sich nach Verwendung dieser Tierart bereits Aussagen über die Eignung im Menschen treffen. Daher wurde die Maus auch für unsere umfassend angelegte Studie mit verschiedenen, aufeinander logisch aufbauenden Experimenten ausgewählt. Tumorzellen und Gentransfersysteme können mittels nicht invasiver molekularer Bildgebung visualisiert werden und somit der Behandlungserfolg sowie die Verteilung der Transfersysteme im Körper visualisiert werden. Um die bildgebenden Methoden auf ihre Eignung für zwei der am häufigsten vorkommenden Tumorarten des Menschen zu testen, werden für Brustkrebs 200 und für Darmkrebs 60 Tiere evaluiert. Nach dieser Etablierung werden Transportsysteme, welche sich nach vorheriger Prüfung in der Zellkultur als anti tumoral wirksam und nicht toxisch für gesunde Zellen gezeigt haben, auf ihre Wirkung im gesunden Gewebe bzw. Organe in 100 Tieren untersucht. Jene Systeme, welche keine unerwünschte Anreicherung im gesunden Gewebe bzw. Organen zeigen, werden dann in weiterer Folge auf ihre Anreicherung im malignen Brust- oder Darmkrebsmetastasen getestet. Um alle Kombinationen sinnvoll abdecken zu können, werden dazu in Summe 900 Tiere benötigt. Darauf aufbauend werden therapeutische Versuche durchgeführt, welche in Kombination mit Chemo- sowie Immuntherapeutika auf ihren Ansprechen und Wirkung auf den Tumor weiter untersucht werden. Mittels zweier verschiedener

Versuchsansätze werden mit 900 bzw. 820 Tieren die wirksamsten Kombinationen ausfindig gemacht und damit erfolgreich im Hinblick auf eine mögliche klinische Anwendung evaluiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Gesamtzahl der Mäuse beträgt 3725.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Eine Reduzierung der Versuche sowie auch damit der Tierzahlen wird durch die nicht-invasive molekulare Bildgebung erreicht. Dadurch können von einem Tier mehr Informationen, über einen längeren Zeitraum gewonnen werden. Auch die Vorevaluation der Modelle trägt dazu bei, dass die eigentlichen Therapie- und Verteilungsstudien an einer geringeren Tierzahl durchgeführt werden müssen. Der Vorgang der schmerzfreien in vivo Bildgebung verfeinert diese Versuche signifikant, da keine belastenden Eingriffe zur Informationsgenerierung nötig sind. Eine moderne, angepasste Anästhesie zur Immobilisierung und eine umsichtige Betreuung der Tiere durch Tierärzte tragen ebenfalls zur Verbesserung der Bedingungen für die Labormäuse bei. Jegliche Studien, für welche nicht zwingend Versuche an Lebewesen notwendig sind, werden stets durch Zellkulturen ersetzt, wie z.B. Studien zur zellulären Toxizität und jegliche Vorversuche um potentiell wirksame Verbindungen zu identifizieren. Selbstverständlich werden alle Tiere in sozialen Kleingruppen gehalten und artgerechtes Nistmaterial, Höhlen sowie Spielzeug wird als Käfigausgestaltung ebenfalls zur Verfügung gestellt.

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, erstmals am 01. Juni 2015 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

zu erwartender Nutzen: Ziel dieser Studie ist es, die Rolle eines Proteins im anaplastischen großzelligen Lymphom (ALCL) in einem Mausmodell zu charakterisieren. Das ALCL ist ein seltenes und aggressives Non-Hodgkin T Zell Lymphom, das vorwiegend in Kindern und jungen Erwachsenen auftritt. Klinisch werden kutane und systemische ALCL unterschieden, wobei letztere weiter in 2 Subtypen eingeteilt wird: Anaplastische Lymphom Kinase positive (ALK+) ALCL und ALK negative (ALK-) ALCL. ALK+ALCL wurde intensiv erforscht und neben der klassischen Chemotherapie zeigen neu entwickelten ALK Inhibitoren gutes Ansprechen bei deutlich geringerem Nebenwirkungsspektrum. Im Gegensatz dazu ist derzeit noch wenig über die onkogenen Faktoren des ALK-ALCL bekannt, das mit einer Überlebensrate von 50% innerhalb der ersten 5 Jahre auch den aggressiveren Subtyp darstellt. Ziel dieser Studie ist der Erkenntnisgewinn über onkogene Mechanismen in ALCL, im spezielleren über den ALK- Subtyp, ferner wollen wir neue therapeutische Kinase Targets identifizieren, die nicht mit ALK assoziiert sind und die in Kombination mit bereits angewendeten Inhibitoren, oder exklusiv als Therapeutika eingesetzt werden können. Unsere ex vivo Daten deuten darauf hin, dass die Abwesenheit einer bestimmten Tyrosinkinase mit der Verringerung des Tumorwachstums in humanen ALCL Zelllinien korreliert.

zu erwartender Schaden: Da es bei NPM-ALK Mäusen zu einer spontanen Tumorentstehung kommt, werden alle ALK+ NPM-ALK transgenen Tiere im Zeitraum der Tumorentstehung kontinuierlich (jeden zweiten Tag) auf Anzeichen eines mediastinalen Tumors (Ruhedyspnoe, vermindertes Gewicht, reduzierte Motilität) untersucht und bei positiven Anzeichen den weiter geplanten Untersuchungen zugeführt. Die Belastung der Versuchstiere wird aufgrund der bekannten humanen schmerzfreien Symptomatik des Anaplastischen Großzelligen Lymphoms als maximal mittelgradig eingestuft ferner auch da Metastasenbildung in dem Zeitintervall des Versuchs nicht auftritt. Die Fortpflanzung und Züchtung ist bis zu einem späten Stadium möglich. Die TYK2 Mäuse zeigen keine markanten Abnormalitäten in der Entwicklung, Fertilität und Ontogenese von Blutzellen daher wird ihre Belastung als gering eingestuft. Knockout Mäuse werden solange beobachtet bis Tumorzeichen auftreten, und dann den geplanten Untersuchungen zugeführt. Sollte es zu keiner Tumorentstehung kommen, werden 50 Wochen als maximale Beobachtungsdauer angenommen.

Mittels eines sog. PDX (Patient Derived Xenograft) Mausmodell werden humane ALCL Zellen subkutan in NSG Mäuse injiziert. Nach etwa 6 Monaten entwickelt sich der humane Tumor in den Mäusen. Analog dazu werden wir auch humane Zellen, die wir akut von Gewebe von ALCL Patienten bekommen, subkutan in NSG Mäuse injizieren. Da die Xenograft Mäuse ab Transplantation mit den Tumorzellen mit den Inhibitoren behandelt werden und die Gesamtdauer des Versuchs 6 Wochen beträgt, ist deren Belastung maximal als mittelgradig einzustufen, da während dieses Zeitraumes Metastasenbildung nicht auftritt.

Für die Bestimmung des Blutbildes wird unter Narkose der retrobulbäre Venenplexus punktiert, um eine möglichst große Blutmenge zu gewinnen. Das Versuchstier wird anschließend durch zervikale Dislokation getötet. Ein Aliquot der Blut- und Knochenmarkszellen wird mittels Flow Cytometry auf Oberflächenmarker hin untersucht, die restlichen Zellen werden in Kultur genommen, um sie für weiteren Analysen anzuzüchten.

Die Tumore werden entnommen, gewogen und anschließend geteilt. Ein kleiner Teil wird in Paraffin eingebettet und den entsprechenden Analysen zugeführt. Ein weiteres Stück Tumormasse wird unter sterilen Bedingungen wieder in Kultur genommen, um das Wachstumsverhalten in vitro zu evaluieren. Der Hauptanteil wird in flüssigem Stickstoff schockgefroren und biochemischen Untersuchungen zugeführt (PCR, EMSA, Western- und Northernblot). Histologische und immunhistochemische Untersuchungen verifizieren Unterschiede im Wachstumsverhalten der Tumorzellen und werden durch detaillierte Beschreibung und Fotodokumentation wiedergegeben, Banden aus Northern- und Westernblot Analysen werden densitometrisch vermessen und ebenfalls fotodokumentiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse unterschiedlichen Genotyps:

Gesamtzahl der Mäuse für experimentelle Studien für 5 Jahre Studiendauer = 540

Gesamtzahl der gezüchteten Tiere unterschiedlichen Genotyps = 972

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Es wurden von unserer Gruppe bereits zahlreiche in vitro Analysen durchgeführt, die auf die mögliche Beteiligung von dieser Tyrosinkinase in der Tumorphiliferation hinweisen. Diese Analysemethoden sind nun an ihre Grenzen gestoßen. Um die bisher gewonnenen Daten in einem reaktionsfähigen Organismus zu bestätigen und deren systemische Bedeutung zu erfassen, ist die Verwendung der Mäuse notwendig.

Verminderung: Die Anzahl der Studientiere wurde durch Berechnung der Stichprobengröße ermittelt. Weiterhin wird die Streuung der Ergebnisse durch Standardisierung der Haltungsbedingungen und der Methodik so gering wie möglich gehalten und so die Anzahl der Tiere auf das erforderliche Mindestmaß reduziert.

Verfeinerung: Die Analyse der transgenen Mäuse wird mit der Beteiligung anderer hochkarätiger Experimentatoren/Kooperationspartner durchgeführt, die umfangreiche Kenntnisse mit der jeweils erforderlichen experimentellen Arbeit haben.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2019 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Als Ziel dieses Projektes wurde definiert, durch die Verabreichung von mesenchymalen Stammzellen (Vorläuferzellen des Bindegewebes, MSC) unter klinischen Bedingungen (OP unter Narkose mit anschließender lokaler Verabreichung von MSC) eine beschleunigte Wundheilung mit geringerer Tendenz zu Infektionen und/oder gestörter Wundheilung nachzuweisen.

zu erwartender Nutzen: Raschere Regeneration, schnellere und verbesserte Wundheilung, geringere Tendenz zu Infektionen. Die Ergebnisse wären in weiterer Folge für Menschen sowie auch für Tiere anwendbar.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die OP-Wunden, welche den Tieren am Rücken zugefügt werden, sind sehr klein und heilen innerhalb von wenigen Tagen aus. (Die zu erwartenden Schmerzen durch diesen Eingriff werden als „Mittel“ eingestuft.)

Während dieser Zeit werden die Tiere kontinuierlich mit schmerzstillenden Medikamenten versorgt. Die Versuchstiere werden auch regelmäßig begutachtet, sodass sichergestellt werden kann, dass die Tiere keine Zeichen des Leidens aufweisen (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens).

2. Art und Anzahl der Tiere

36 immunsupprimierte Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die geplanten Versuche müssen in vivo (am lebenden Tier/Gewebe) abgehandelt werden, da es nötig ist diese an einem lebenden Wundbett durchzuführen um zu sehen, wie sich die Wundregeneration unter Einfluss von mesenchymalen Stammzellen verhält

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert jedoch werden so viele Tiere herangezogen wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig sind.

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie Nestbaumaterial in Form von Nestpaks und Zellstoff bereitgestellt. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Mäuse an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezügliche empfundene Stress während der Experimente reduziert ist.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel dieser Studie ist es die Pharmakokinetik und Verfügbarkeit von 10 verschiedenen L- bzw. D-Peptiden zur Immunisierung gegen den humanen Papilloma Virus zu testen. Dafür werden die Peptide Sprague Dawley Ratten oral, intravenös oder intratracheal verabreicht. Zu acht Zeitpunkten nach der Behandlung wird den Ratten eine kleine Menge Blut abgenommen. Während 24 Stunden nach der oralen und intravenösen Behandlung werden die Tiere zusätzlich in Stoffwechselkäfigen gehalten die es erlauben den Urin und den Kot der Tiere für spätere Untersuchungen zu sammeln. Nach 24 Stunden werden die Tiere euthanasiert und Blut sowie der Inhalt des Dickdarms gewonnen. Durch diese Studie kannst festgestellt werden in welchen Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen sich die Substanzen nach den verschiedenen Behandlungsarten nachweisen lassen. Dadurch wird es möglich sein eine adäquate Behandlungsrouten für diese neue Vakzinierung gegen den humanen Papilloma Virus zu bestimmen. Die Wirksamkeit der hier getesteten Substanzen als Impfstoff selbst wurde bereits untersucht und ist nicht Inhalt dieser Studie.

Humane Papilloma Viren (HPV) infizieren Epithelzellen der Haut und verschiedener Schleimhäute und können bei den infizierten Zellen ein unkontrolliertes tumorartiges Wachstum hervorrufen. Diese Tumoren sind meist gutartig, können jedoch auch bösartige Veränderungen hervorrufen, insbesondere Gebärmutterhalskrebs (Zervixkarzinom) bei Frauen. Vermutlich ist auch ein erheblicher Anteil der Scheiden-, Penis- und Anal-Karzinome Folge einer solchen HPV-Infektion. HPV kann durch Oralverkehr auch auf die Mundschleimhaut übertragen werden und dort Mundtumoren auslösen. Seit einigen Jahren ist eine Impfung gegen den HPV Virus erhältlich und die meisten Länder empfehlen eine Impfung von Mädchen während der frühen Pubertät. In vielen Entwicklungsländern und abgelegenen tropischen Regionen ist es schwierig Impfstoff entsprechend gekühlt zur Bevölkerung zu transportieren. Um den Impfstoff leichter und somit ungekühlt in die entlegenen Regionen der Welt transportieren zu können, will unser Auftraggeber verschiedene Behandlungsrouten testen. Sollte es möglich sein den Impfstoff als Inhalat zu verabreichen, könnten entsprechende Inhalatoren einfach in die entlegenen Regionen transportiert werden. Ebenso einfach wäre eine orale Gabe mittels Tabletten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 120 männliche wildtyp Sprague Dawley Ratten beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um die Pharmakokinetik und Verfügbarkeit von neuen Arzneimitteln zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.b. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel unsers Projekts ist der Aufbau einer zentralen Serviceeinheit für die Produktion von genetisch veränderten Mäusen. Im Wesentlichen können je nach wissenschaftlicher Zielsetzung zwei Arten von Erbgutveränderungen unterschieden werden: die gezielte Transgenese und die ungezielte Transgenese.

Zu erwartender Nutzen: Beantwortung von essenziellen Fragen zu den grundlegenden pathologischen Mechanismen dieser Erkrankungen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Entwicklung der neuen Mausmodelle ist eine kurzzeitige Belastung mittleren Grades notwendig. Es ist zu erwarten, dass die neu generierten Linien einen Phänotyp des zentralen Nervensystems aufweisen. Die Belastung infolge einer Ausbildung des Krankheitsbildes wird durch definierte Abbruchkriterien auf den Schweregrad mittel begrenzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Generierung der neuen Krankheitsmodelle werden 14680 Labormäuse eingesetzt. Dies ergibt einen Verbrauch von 5850 Empfängerweibchen (CD-1), 8750 Spenderweibchen (C57BL/6, B6D2/F1 oder FB6/F1), und 80 Männchen für Vasektomie.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die Planung der Projekte umfasst umfangreiche Recherchen zur Überprüfung der zugänglichen Ressourcen hinsichtlich der Verfügbarkeit bereits vorhandener Modelle, um unnötige Duplikationen von bereits bestehenden Mausmodellen zu vermeiden.

Verminderung: Das experimentelle Design wird ständig optimiert, um die Anzahl benötigter Versuchstiere auf ein absolutes Minimum zu reduzieren. Die Chimären werden mit embryonalen Stammzellen generiert, die den gewünschten genetischen Hintergrund haben, wodurch aufwendige Rückkreuzungen vermieden werden. Wir sind sehr interessiert daran in kürzester Zeit das Genome Engineering Verfahren einzuführen. Dieses Verfahren ermöglicht die Herstellung einer Maus mit gezielter Mutation innerhalb von etwa einem Monat in einem gewünschten Hintergrund. Der Vorteil dieser Technologie liegt u. A. in der Reduktion der Anzahl benötigter Tiere während der Keimbahntransmission und der Rückkreuzung.

Verfeinerung: Wir beabsichtigen eine unblutige Methode für den Embryotransfer einzuführen. Dies ermöglicht den Embryotransfer von Blastozysten ohne chirurgische Eingriffe. Die Experimente werden ausschließlich von Mitarbeitern durchgeführt, die über umfangreiche Expertise auf dem Gebiet verfügen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Malaria ist eine von einzelligen Parasiten der Gattung Plasmodium hervorgerufene Tropenerkrankung. Die Krankheit wird durch den Stich der weiblichen Stechmücke der Gattung Anopheles übertragen. Fünf humanpathogene Erreger Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovalae, P. malariae und P. knowlesi, einem zoonotischen Parasiten sind bekannt die verschiedene Krankheitsbilder auszulösen und auch verschieden pathogen sind. Das derzeit am häufigsten verabreichte Therapeutikum ist Coartem mit den Wirkstoffen Lumefantrine und Artemether. Lumefantrine beruht chemisch auf den Malariapräparaten Chinin und Mefloquine. Gegen diese beiden Wirkstoffe gibt es bereits breite Resistenzen, da sie als Monotherapeutika eingesetzt worden sind. Durch die Kombination von Lumefantrine mit Artemether konnte bisher eine breite Resistenzbildung vermieden werden obwohl sich seit kurzem Fälle in Thailand häufen.

zu erwartender Nutzen: Ein neues Medikament im Kampf gegen Malaria könnte eine der hier zu testenden Substanzen werden die in den letzten zwei Jahren synthetisiert und medizinisch-chemisch erforscht wurden. Einige dieser Substanzen haben sich in in vitro Tests als hoch wirksam erwiesen, insbesondere auch gegen resistente Stämme. Die Substanzen sind im Bereich $< 10 \text{ nM}$ auf beiden Stämmen effektiv bei fehlender bzw. sehr geringer Toxizität auf Zellen ($10 \mu\text{M}$). Fünf Substanzen dieser in vitro hochwirksamen Substanzen sollen im Tiermodell auf ihre Wirksamkeit getestet werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Für die Tiere kann es in diesen Experimenten zu einem schweren Belastungsgrad kommen, da es sich um Survivalexperimente handelt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Als Versuchstiere werden weibliche Mäuse der Stämme CD-1 (ICR) und C57Bl/6 im Alter zwischen 7 und 9 Wochen eingesetzt. Das Körpergewicht beträgt ca. 30g-35g bzw. 20g-25g. Diese 2 Mauslinien wurden ausgewählt, da sie sehr gut mit den zu verwendenden Malariaerregern infizierbar sind. Insgesamt sind maximal 840 Tiere für Etablierung, Effizienz und Dosisfindung eingeplant.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Diese Studie wurde unter Einhaltung des 3 R Prinzips geplant.

Vermeidung: Es wurde für diese Zielsetzung nach Alternativmethoden in den ECVAM / ZEBET Datenbanken gesucht, aber keine entsprechenden Methoden zur Testung der Substanzen ohne Tiermodell gefunden, da ja alle in vitro Methoden schon ausgeschöpft wurden

Verminderung: Natürlich wurde bei der Versuchsplanung auch eine Risikoabschätzung gemacht und versucht die Anzahl der Tiere so gering, wie möglich zu halten z.B. durch die Selektion eines quantitativen Malariatests, was die Anzahl der Tiere für eine sichere statistische Untersuchung reduziert. Weniger große Tierzahlen als die geplanten würden die erwartete Trennschärfe der Tests und deshalb die Aussagekraft der Experimente kompromittieren.

Verfeinerung: Es wurde auch immer beachtet das Leiden der Tiere so gering, wie möglich zu halten, z.B. durch Abnahme geringster Blutprobenmengen ($5 \mu\text{l}$ /Untersuchung) und das Festlegen eines Scoring Systems mit klar definierten Endpoints.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Juli 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In dieser Studie soll ein neuer PRRSV-Impfstoff und anschließender Challenge mit einem PRRS-Feldvirusstamm getestet werden.

Die Ferkel stammen aus einem konventionellen, dokumentiert PRRSV-freien Betrieb. Die Tiere werden in einem Kontumazstall in zwei getrennten Abteilungen in Gruppen zu je 10 Tieren aufgestellt. Die Fläche der Stallungen beträgt je Gruppe 8 - 12m² bei ad libitum Futter und Wasser. Es finden eine Personalzutrittskontrolle und ein Kleidungswechsel in einer Schleuse statt.

Die 10 Ferkel der Impfgruppe haben bei der Einstellung ein Körpergewicht von ca. 6 kg. Nach einer ca. 5 tägigen Eingewöhnungsphase erfolgt die 1malige Impfung mit einem neuen Impfstoff. Die Tiere werden, beginnend mit der Einstellung, täglich klinisch untersucht und an den Tagen 0, 7, 14, 21 und 28 nach Impfung wird ihnen Blut entnommen. Am Tag 37-38 nach Versuchsbeginn werden die 10 Tiere der Kontrollgruppe mit einem Alter von 9 Wochen und einem Gewicht von ca. 18 kg zur Eingewöhnung eingestallt. Am Tag 42 nach Versuchsbeginn, erfolgt die Challenge bei beiden Gruppen. An den Tagen 0, 3, 7, 10, 14, 21 und 28 nach der Challenge wird den Schweinen wieder Blut entnommen. Es erfolgt wieder eine tägliche klinische Untersuchung. Das Auftreten und die Schwere von klinischen Symptomen nach der Impfung und Challenge werden genauestens im Formular „Klinische Symptome“ dokumentiert und bewertet.

Ziel ist es die Immunantwort auf den Impfstamm zu verfolgen und die klinischen Symptome zu beurteilen. Bei der anschließenden Challenge mit einem Feldstamm soll geprüft werden, ob der neue Impfstoff eine Viruszirkulation im Vergleich zu einer nicht geimpften Kontrollgruppe verringert oder sogar verhindert und ob sich die Ausprägung klinischer Symptome in den beiden Gruppen unterscheidet. Nach Ende des Versuches erfolgt eine pathologische Untersuchung.

Die Gesundheit der Schweine wird täglich überprüft. Die Schweine haben ausreichend Bewegungsfreiheit. Die Tiere werden in der ca. fünftägigen Eingewöhnungsphase an den Menschen gewöhnt, um die täglichen Reinigungsarbeiten im Stall stressfrei zu dulden. Die Reinigung der Stallungen erfolgt täglich. Den Schweinen wird Spielzeug zur Beschäftigung angeboten. Die Schweine werden ad libitum gefüttert. Wasser steht ihnen ebenfalls ad libitum zur Verfügung.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Schweine (2 Gruppen mit je 10 Tieren)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Das verfolgte Ziel des Tierversuches, kann nicht durch in vitro Verfahren erzielt werden, da eine komplexe Immunantwort auf einen neuen Impfstoff mit anschließender Challenge mit einem Feldstamm untersucht wird. Zellkultursysteme können den vielseitigen Ablauf bei einer Immunantwort auf diesen Impfstoff mit anschließender Konfrontation mit einem Feldvirus nicht widerspiegeln.

Verminderung: Die Anzahl von 20 Schweinen basiert auf unseren derzeitigen Erfahrungen auf diesem Gebiet. Wir werden von einem Biostatistiker bei der Durchführung der Untersuchungen beraten, um sicherzustellen, dass die minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. Somit wird eine Wiederholung des Tierversuches vermieden.

Verbesserung: Da eine Immunantwort auf einen Schweinevirusimpfstoff getestet wird, werden Schweine als Versuchstiere herangezogen. Die Tiere werden während des Versuches in Gruppen gehalten, wie es der Tierart entspricht, um soziale Kontakte zu ermöglichen. Es wird ihnen auch Beschäftigungsmaterial angeboten um das arttypische Verhalten zu fördern und Stress zu reduzieren. Die Manipulationen am Tier werden auf das Notwendigste reduziert. Dabei handelt es sich um 2 Injektionen und 13 Blutabnahmen. Sollte ein Tier leiden oder an einer schweren Infektion erkranken, wird es vorzeitig schmerzfrei getötet.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Tierversuches ist die Erhebung von Daten, die für eine Zulassung eines Behandlungssystems für Diabetes Typ1-Patienten notwendig sind. Das System besteht aus in Zellulose-Sulfat verpackte, gentechnisch modifizierte Zellen, die bei Bedarf Insulin produzieren und an die Umgebung abgeben. Die verkapselten Zellen werden in die Patienten appliziert, um so den Glucose-Haushalt dauerhaft zu regulieren. Bevor das System im Menschen getestet werden kann, muss erst die Tumorigenität der Zellen bestimmt werden, da es im Falle eines Kapselbruches zu keiner Tumorbildung im Patienten kommen darf. Außerdem muss die Gewebsverträglichkeit der Kapseln überprüft werden, das heißt, es sollten am Applikationsort keine Gewebsveränderungen wie z.B. Entzündungen oder Nekrosen entstehen. Die Tumorigenität einer Zelllinie wird über die Tumor-produzierenden Dosis 50% (Tpd50) definiert. Für die Ermittlung der Tpd50 werden unterschiedliche Mengen an Zellen in immundefiziente Mäuse injiziert und die Anzahl der Tiere, bei denen sich Tumoren entwickeln, bestimmt. Daraus wird die Zellzahl berechnet, die notwendig ist um bei 50 % der Tiere Tumoren anwachsen zu lassen. Für die Gewebsverträglichkeit werden verkapselte Zellen in Balb/c-Mäuse subcutan injiziert, die Tiere werden nach sieben Tagen getötet, nach makroskopischer Beurteilung der Injektionsstelle werden die Kapseln mit dem umliegenden Gewebe entnommen und histopathologischen Untersuchungen zugeführt.

zu erwartender Nutzen: Überprüfung einer neuartigen Therapiemethode am Tiermodell; diese Methode soll in späterer Folge zu einer dauerhaften und gut regulierten Insulinsubstitution bei Diabetespatienten führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: subcutanes Tumorwachstum; Belastung der Tiere: mittel

2. Art und Anzahl der Tiere

31 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Da die in diesem Tierversuch gewonnenen Daten für die Zulassung der Kapseln als Therapie für Menschen erforderlich sind, kann auf den Tierversuch nicht verzichtet werden.

Verminderung: Es wird ohnedies die kleinstmögliche Anzahl an Tieren eingesetzt um statistisch auswertbare Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Haltung: Die Mäuse werden in Gruppen von maximal zehn Tieren in Makrolonkäfigen vom Typ 111 gehalten. Als Versteckmöglichkeit stehen Nagerhäuschen zur Verfügung, zur Beschäftigung der Tiere wird reichlich Nestbaumaterial in die Käfige gegeben. Futter und Wasser werden ad libitum angeboten, das Umsetzen der Tiere in Käfige mit frischer Einstreu erfolgt zweimal wöchentlich. Versuchsaufbau: Die Tiere werden täglich kontrolliert; bei Tumorwachstum werden die Tiere getötet, ehe die Tumorgroße für die Tiere belastend wird.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Dieser Test überprüft die Reinheit von Zelllinien, die zur Herstellung von pharmazeutischen Produkten in Verwendung sind. Dabei wird das Untersuchungsmaterial in das Tier appliziert und nach einem definierten Beobachtungszeitraum werden Antikörpertiter gegen eine behördlich empfohlene Liste von Antigenen gemessen.

zu erwartender Nutzen: Sicherheit in der Produktion von Human-, und Veterinärarzneimitteln/ Impfstoffen und somit auch eine Sicherstellung der menschlichen und tierischen Gesundheit.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den narkotisierten Tieren wird das Untersuchungsmaterial einmalig über verschiedene Applikationsrouten verabreicht. Der Belastungsgrad wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 120 Mäuse und 120 Hamster beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Die Gesetzgebung schreibt die Überprüfung der Reinheit biopharmazeutische Produkte vor, es werden nur die Untersuchungen durchgeführt, die erforderlich sind.

Verminderung: Da es um eine reine Qualitätskontrolluntersuchung handelt, basieren Gruppengrößen sowohl auf die Erfahrungen bisherige Untersuchungen und werden gleichzeitig auf das Minimum reduziert um noch eine verlässliche Aussagekraft zu erhalten.

Verfeinerung: Tiere werden standardisiert in Gruppen gehalten und Käfige mit Enrichment ausgestattet. Die Applikation des Untersuchungsmaterials wird unter Inhalationsnarkose durchgeführt und Tiere auf ihren Gesundheitszustand täglich genauestens kontrolliert. Abbruchkriterien sind definiert und werden angewandt um unnötiges Leid zu verhindern.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Sehnenverletzungen bedeuten für Patienten neben Schmerzen oft auch langwierige Rehabilitationsmaßnahmen, was sich negativ Lebensqualität und Arbeitsfähigkeit auswirkt. Die Sehnenheilung verläuft zumeist langsam und häufig inkomplett. Besonders Diabetiker leiden häufig unter schlecht heilenden Sehnendefekten, die auch operativ nicht adäquat versorgt werden können. Als Ursache dafür wird der langfristig erhöhte Blutzuckerspiegel angenommen, der zu Veränderungen der Sehnenmatrix führt. Im Rahmen unser Bemühungen, Zellen in humanen Sehnen zu charakterisieren und für Zelltherapieanwendungen nutzbar zu machen, haben wir eine Zellpopulation identifiziert, die große Ähnlichkeiten mit Betazellen aus dem Pankreas aufweist: Diese Sehnenzellen produzieren Glut2, PDX1, Glucagon und sezernieren auch Insulin. Wir konnten zeigen, dass die Ausschaltung der Zellen durch Streptozotocin binnen 5 Tagen zu einer Reduktion der Maximalkraft der Sehnen um 40% führt. Besondere klinische Relevanz kommt nun der Frage zu, ob sich die Nahrungszusammensetzung auch auf den Heilungsverlauf von verletzten Sehnen auswirkt. Diese Erkenntnis könnte zu einer Diätempfehlung führen, die Patienten nach einer Sehnenverletzung bzw. Operation zu einer rascheren Heilung verhilft. Zu diesem Zweck sollen Defekte an Achillessehnen von Ratten erzeugt werden. Die Tiere werden in 2 Gruppen aufgeteilt, von denen eine mit glukosereichem und eine mit Kontrollfutter ernährt werden soll. Nach 6 Wochen werden die Tiere getötet und die Achillessehnen biomechanisch, histologisch und molekularbiologisch untersucht. In einem Vorversuch konnten wir bereits zeigen, dass Glukose einen Einfluss auf die Regeneration der Achillessehne hat. Aufgrund der generierten Daten soll nun der Einfluss der glukosereichen Diät auf die Sehnenregeneration weiter studiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden weibliche, adulte Ratten vom Stamm "Lewis" (R. norvegicus) mit einem Gewicht von ca. 200 g für die verschiedenen Versuchsgruppen verwendet. Insgesamt werden für den beantragten Versuch 90 Versuchstiere (LEW/Crl) benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Sehnenregeneration stellt einen komplexen und multifaktoriellen Prozess dar, dem ein differenziertes Zusammenspiel verschiedenster biologischer und biomechanischer Faktoren zugrunde liegt. Die grundlegenden Mechanismen der Sehnenheilung sind zum aktuellen Zeitpunkt jedoch noch weitgehend unklar. Zahlreiche in vitro Vorarbeiten wurden durchgeführt um diese grundlegenden Mechanismen der Sehnenregeneration und -regeneration zu erforschen. Schlussendlich kann aber der komplexe Prozess der Sehnenheilung nicht im theoretischen Modell oder in vitro in seiner Gesamtheit simuliert werden und kann letztendlich nur im Tierversuch aussagekräftig studiert werden. Dies lässt sich auch damit begründen, dass für den beantragten Versuch das Immunsystem des Versuchstieres, die Blutversorgung und die damit einhergehende Einwanderung von Stammzellen aus der Defektumgebung, sowie die Ernährung großen Einfluss auf den Heilungserfolg haben. Schlussendlich ist die klinische Anwendung ohne erfolgreichen Abschluss von kontrollierten Tierversuchen ethisch nicht vertretbar.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Immunsystem stellt ein komplexes Netzwerk aus Zellen und Botenstoffen dar, die entscheidend für die Abwehr von Infektionen sind. Darüber hinaus können Immunzellen entartete Zellen erkennen und bekämpfen und somit von entscheidender Bedeutung bei einer Anti-Tumorantwort. Unkontrollierte Aktivierung dieses Netzwerkes kann jedoch zu chronischen Entzündungsreaktionen wie z.B. Autoimmunität und Allergie führen. Deshalb ist es für einen gesunden Organismus von entscheidender Bedeutung, dass das Immunsystem möglichst fehlerfrei agiert. Um dies zu gewährleisten gibt es auf molekularer Ebene verschiedene Kontrollstationen (Checkpoints). Ziel unserer Forschung ist es die molekularen Mechanismen aufzuklären, die einer erfolgreichen Immunantwort zu Grunde liegen. Dazu fokussieren wir auf Proteinkinasen (PKCalpha, PKCbeta, PKCtheta, Nlk, PKD1, PKD3), Effektorproteine (Cbl-b, Coronin1a, ADORA2A) sowie Transkriptionsfaktoren (NR2F6, RORC), die wir in unserer bisherigen Arbeit als Checkpoint-Proteine identifizieren konnten. Unsere Forschung trägt damit zur Entschlüsselung von Aktivierungs- bzw. Regulierungsprozessen und somit zu einem besseren Verständnis der Physiologie des Immunsystems bei. Wir sind davon überzeugt, dass die Erkenntnisse, die wir mittels genetisch modifizierten Mäusen und krankheits-relevanten Tiermodellen gewinnen, in der Zukunft dazu beitragen, Erkrankungen des Immunsystems in der Klinik besser therapieren zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

10523 Mäuse unterschiedlicher Genotypen (genetisch modifizierte Mäuse)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Aufgrund der Komplexität des Immunsystems, können die Fragestellungen des vorliegenden Antrags nur bedingt mit Zelllinien untersucht werden. Für die Analyse von Signalwegen stehen verschiedene Tumor- und Immun-Zelllinien in unserem Labor zur Verfügung. Desweiteren werden zur Vermeidung von Versuchen am Tier wenn möglich isolierte Zellen (ex vivo) verwendet – d.h. primäre Immunzellkulturen gewonnen aus den entsprechenden Organen von euthanasierten Mäusen. Um jedoch die für Krankheitsprozesse relevanten Mechanismen eines komplexen Organsystems zu untersuchen, müssen wir auf lebende Organismen zurückgreifen. Dabei stellen Mausmodelle eine etablierte Methode in der Immunologie (Infektionserkrankungen, Autoimmunität, Tumormunität) dar. Das Immunsystem der Maus ist dem des Menschen sehr ähnlich und erlaubt Rückschlüsse, die für die Behandlung von Patienten genutzt werden können. Dank der verschiedenen genetisch modifizierten Mauslinien, wird es uns möglich sein die Funktion der oben genannten Checkpoint-Gene in relevanten Krankheitsmodellen zu analysieren.

Verminderung und Verfeinerung: Bei Tierversuchen (in vivo Analysen und Endpunktmessungen) werden wir als Forschergruppe eng zusammenarbeiten, um möglichst viele relevante Daten aus einem einzigen Tier zu erheben und somit die Tierzahl zu minimieren. Die tägliche Versorgung der Tiere erfolgt durch ausgebildete Tierpfleger und trägt dazu bei, die Tiere an den Umgang zu gewöhnen und somit Stress zu reduzieren. Gruppenhaltung sowie Anreicherung der Umgebung („enrichment“) und Nestbaumaterialien tragen des Weiteren dazu bei, dass sich die Tiere wohlfühlen. Diese standardisierten Haltungs- und auch Versuchsbedingungen sind wichtig, um die Streuung der Versuchsergebnisse zu minimieren und so die Tierzahl auf das notwendige Minimum zu reduzieren. Während der geplanten Tierversuche werden die Tiere verstärkt kontrolliert, d.h. zusätzlich zu der Kontrolle durch Tierpfleger kümmern sich die Wissenschaftler, die den Versuch durchführen, um das Wohlergehen der Tiere und dokumentieren mittels sogenannten „Score-Sheets“ die Mausegesundheit. Dies ermöglicht die frühzeitige Erkennung von Belastungen und das Ergreifen entsprechender Maßnahmen; wie beispielweise die Verwendung von Analgesie oder Euthanasie. Dabei werden strenge, zuvor definierte Abbruchkriterien („humane endpoints“) angewandt. Um

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Immunsystem stellt ein komplexes Netzwerk aus Zellen und Botenstoffen dar, die entscheidend für die Abwehr von Infektionen sind. Darüber hinaus können Immunzellen entartete Zellen erkennen und bekämpfen und somit von entscheidender Bedeutung bei einer Anti-Tumorantwort. Unkontrollierte Aktivierung dieses Netzwerkes kann jedoch zu chronischen Entzündungsreaktionen wie z.B. Autoimmunität und Allergie führen. Deshalb ist es für einen gesunden Organismus von entscheidender Bedeutung, dass das Immunsystem möglichst fehlerfrei agiert. Um dies zu gewährleisten gibt es auf molekularer Ebene verschiedene Kontrollstationen (Checkpoints). Ziel unserer Forschung ist es die molekularen Mechanismen aufzuklären, die einer erfolgreichen Immunantwort zu Grunde liegen. Dazu fokussieren wir auf Proteinkinasen (PKCalpha, PKCbeta, PKCtheta, Nlk, PKD1, PKD3), Effektorproteine (Cbl-b, Coronin1a, ADORA2A) sowie Transkriptionsfaktoren (NR2F6, RORC), die wir in unserer bisherigen Arbeit als Checkpoint-Proteine identifizieren konnten. Unsere Forschung trägt damit zur Entschlüsselung von Aktivierungs- bzw. Regulierungsprozessen und somit zu einem besseren Verständnis der Physiologie des Immunsystems bei. Wir sind davon überzeugt, dass die Erkenntnisse, die wir mittels genetisch modifizierten Mäusen und krankheits-relevanten Tiermodellen gewinnen, in der Zukunft dazu beitragen, Erkrankungen des Immunsystems in der Klinik besser therapieren zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

10523 Mäuse unterschiedlicher Genotypen (genetisch modifizierte Mäuse)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Aufgrund der Komplexität des Immunsystems, können die Fragestellungen des vorliegenden Antrags nur bedingt mit Zelllinien untersucht werden. Für die Analyse von Signalwegen stehen verschiedene Tumor- und Immun-Zelllinien in unserem Labor zur Verfügung. Desweiteren werden zur Vermeidung von Versuchen am Tier wenn möglich isolierte Zellen (ex vivo) verwendet – d.h. primäre Immunzellkulturen gewonnen aus den entsprechenden Organen von euthanasierten Mäusen. Um jedoch die für Krankheitsprozesse relevanten Mechanismen eines komplexen Organsystems zu untersuchen, müssen wir auf lebende Organismen zurückgreifen. Dabei stellen Mausmodelle eine etablierte Methode in der Immunologie (Infektionserkrankungen, Autoimmunität, Tumormunität) dar. Das Immunsystem der Maus ist dem des Menschen sehr ähnlich und erlaubt Rückschlüsse, die für die Behandlung von Patienten genutzt werden können. Dank der verschiedenen genetisch modifizierten Mauslinien, wird es uns möglich sein die Funktion der oben genannten Checkpoint-Gene in relevanten Krankheitsmodellen zu analysieren.

Verminderung und Verfeinerung: Bei Tierversuchen (in vivo Analysen und Endpunktmessungen) werden wir als Forschergruppe eng zusammenarbeiten, um möglichst viele relevante Daten aus einem einzigen Tier zu erheben und somit die Tierzahl zu minimieren. Die tägliche Versorgung der Tiere erfolgt durch ausgebildete Tierpfleger und trägt dazu bei, die Tiere an den Umgang zu gewöhnen und somit Stress zu reduzieren. Gruppenhaltung sowie Anreicherung der Umgebung („enrichment“) und Nestbaumaterialien tragen des Weiteren dazu bei, dass sich die Tiere wohlfühlen. Diese standardisierten Haltungs- und auch Versuchsbedingungen sind wichtig, um die Streuung der Versuchsergebnisse zu minimieren und so die Tierzahl auf das notwendige Minimum zu reduzieren. Während der geplanten Tierversuche werden die Tiere verstärkt kontrolliert, d.h. zusätzlich zu der Kontrolle durch Tierpfleger kümmern sich die Wissenschaftler, die den Versuch durchführen, um das Wohlergehen der Tiere und dokumentieren mittels sogenannten „Score-Sheets“ die Mausgesundheit. Dies ermöglicht die frühzeitige Erkennung von Belastungen und das Ergreifen entsprechender Maßnahmen; wie beispielsweise die Verwendung von Analgesie oder Euthanasie. Dabei werden strenge, zuvor definierte Abbruchkriterien („humane endpoints“) angewandt. Um

Schmerzen und Leiden zu reduzieren, werden wir wenn notwendig Eingriffe am Tier unter Anästhesie durchführen und analgetische Substanzen verabreichen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2016 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In dieser Studie soll ein neues Feldvirusisolat bei experimenteller Infektion von konventionellen Ferkeln untersucht werden um eine Bestandsvakzine herzustellen. Die Ferkel stammen aus einem konventionellen, PRRSV freien Betrieb. Die Tiere werden in einem Kontumazstall in zwei getrennten Abteilungen in Gruppen zu je 10 Tieren aufgestellt. Die Fläche der Stallungen beträgt je Gruppe 8m² bei ad libitum Futter und Wasser. Die Abteilungen besitzen eigene Lüftungs- und Abwassersysteme, damit keine Kontamination bzw. Erregerübertragung stattfinden kann. Des Weiteren finden eine Personalzutrittskontrolle und ein Kleidungswechsel in einer Schleuße statt. Die Ferkel haben bei der Einstallung ein Körpergewicht von ca. 12 kg. Sie wurden 2x mit einem kommerziellen Impfstoff geimpft. Zum Nachweis der PRRSV-freiheit wird den Tieren am Tag -5 Blut entnommen. Nach einer 5 tägigen Eingewöhnungsphase erfolgt die Infektion mit dem Feldstamm intrakutan. Die Tiere werden täglich klinisch untersucht und an den Tagen 3, 7, 10 und 14 nach Infektion wird ihnen Blut entnommen. Das Auftreten von klinischen Symptomen und die Schwere der pathomorphologischen Läsionen nach der Infektion werden genauestens im Formular „Klinische Symptome“ dokumentiert und bewertet. Ziel ist es die Immunantwort auf den Feldstamm zu verfolgen und die klinischen Symptome zu beurteilen. Nach Ende des Versuches erfolgt eine pathologische Untersuchung. Die Gesundheit der Schweine wird täglich überprüft. Die Schweine haben ausreichend Bewegungsfreiheit. Die Tiere werden in der fünftägigen Eingewöhnungsphase handzahn gemacht, um die täglichen Reinigungsarbeiten im Stall stressfrei zu dulden. Die Reinigung der Stallungen erfolgt täglich. Den Schweinen wird Spielzeug zur Beschäftigung angeboten. Die Schweine werden ad libitum gefüttert und getränkt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 20 Ferkel benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Replacement/Vermeidung

Das verfolgte Ziel des Tierversuches, kann nicht durch in vitro Verfahren erzielt werden, da eine komplexe Immunantwort auf einen neuen Impfstoff untersucht wird. Zellkultursysteme können den vielseitigen Ablauf bei einer Immunantwort auf diesen Impfstoff nicht widerspiegeln. Der Tierversuch kann auch nicht vermieden werden, da es bei einem Ausbruch der Krankheit zu hohen wirtschaftlichen Schäden kommen würde.

Reduction/Verminderung

Die Anzahl von 20 Schweinen basiert auf unseren derzeitigen Erfahrungen auf diesem Gebiet. Wir werden von einem Biostatistiker bei der Durchführung der Untersuchungen beraten, um sicherzustellen, dass die minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. Somit wird eine Wiederholung des Tierversuches vermieden.

Refinement/Verbesserung

Da eine Immunantwort auf einen Schweinevirusimpfstoff getestet wird, werden Schweine als Versuchstiere herangezogen. Die Tiere werden während des Versuches in Gruppen gehalten, wie es der Tierart entspricht, um soziale Kontakte zu ermöglichen. Es wird ihnen auch Beschäftigungsmaterial angeboten um das arttypische Verhalten zu fördern und Stress zu reduzieren. Die Manipulationen am Tier werden auf das Notwendigste reduziert. Dabei handelt es sich um 1x Injektion und 5x Blutabnahme. Sollte ein Tier leiden oder an einer Infektion erkranken, wird es vorzeitig schmerzfrei getötet.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Morbus Parkinson wird primär und im klassischen Sinne als Bewegungsstörung angesehen welche hauptsächlich durch das Absterben der Dopamin-produzierenden Neuronen in der Substantia nigra gekennzeichnet ist. Es mehren sich nun aber Hinweise darauf, dass Symptome die nicht die motorische Kontrolle betreffen, wie Depression und Angstzustände (35 – 40 % der Patienten), den motorischen Symptomen vorausgehen. Das Auftreten von nicht-motorischen Symptomen könnte durch den Verlust der dopaminergen Innervation des limbischen Systems, wie Amygdala, Hippocampus und präfrontaler Cortex, und den daraus resultierenden neurochemischen Veränderungen und Neubildung von neuronalen Netzwerken, bedingt sein.

Die nicht motorischen Symptome von Parkinson können für gewöhnlich nur schlecht mit derzeitiger Medikation kontrolliert werden und stellen deshalb eine große Herausforderung bei der Behandlung von Morbus Parkinson Patienten dar. Das Ziel dieses Projekts ist es daher ein Tiermodell für Depression und Angstzustände in der Bewegungsstörungs-freien Frühphase von Parkinson zu entwickeln, um die Entstehung dieser psychiatrischen Symptome besser zu verstehen und damit eine optimierte Behandlung zu entwickeln. Um dies zu erreichen wird den Tieren unter Narkose eine niedrige Dosis des Neurotoxins 6-OHDA injiziert. Dadurch wird eine beschränkte (ca 30%) retrograde Degeneration der Neuronen erreicht die einem Frühstadium von Parkinson entspricht. Erfahrungsgemäß wird diese minimal-invasive OP von den Tieren gut vertragen und beinhaltet keine weiteren Belastungen. Im seltenen Falle einer postoperativen Infektion/Entzündung erhalten die Tiere eine dementsprechende medikamentöse Behandlung. Da diese Studie die nicht motorischen Symptome von Parkinson untersucht, sind die Tiere prinzipiell einer geringeren Belastung ausgesetzt als in Standard-Parkinson Tiermodellen die Bewegungsstörungen induzieren. Nach einer postoperativen Ruhephase werden verschiedene Verhaltenstests zur Bestimmung des Angst- und Depressionslevels der Tiere durchgeführt sowie Tests um nicht erwünschte, beginnende Bewegungsstörungen auszuschließen. Alle Verhaltenstests wurden gezielt konzipiert um Stress und Belastung der Tiere soweit wie möglich zu vermeiden oder zu vermindern. Zusätzliche anatomische und histologische Untersuchungen werden anschließend durchgeführt um zugrundeliegende Mechanismen aufzuklären.

2. Art und Anzahl der Tiere

249 Mäuse für 3 Jahre

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung

Da unsere Studie versucht einige wichtige Aspekte von komplexen Verhalten wie Furcht und Angst und den neuronalen Zusammenhängen bei Morbus Parkinson zu klären, ist es nicht möglich auf Zellkultur oder computerbasierte Anwendungen auszuweichen.

Verminderung

Alle unsere Experimente wurden so konzipiert und optimiert, dass die Tiere für mehr als ein Untersuchung verwendet werden können um die Anzahl der benötigten Tiere zu senken.

Verfeinerung

Wir werden die kleinstmöglichen Kanülen und Mengen verwenden, um den Tieren unnötiges Leid und Schmerzen zu ersparen. Die Tiere werden täglich auf ihren Gesundheitsstatus untersucht und bei Bedarf wird den Tieren eine Medikation verabreicht. Das Ziel des Projekts ist die Entwicklung neuer therapeutischer Behandlungen für die Angstsymptomatik bei Patienten mit Morbus Parkinson.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März. 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Es werden knockout Mäuse zur Erforschung der physiologischen Rolle der kanonischen Transient Receptor Potential (TRPC) Ionenkanäle gezüchtet. Diese Ionenkanäle spielen eine Rolle bei physiologischen Prozessen in verschiedenen Gewebstypen des Menschen, wobei deren Beitrag in vielen Fällen noch immer unklar und eine selektive pharmakologische Beeinflussung noch nicht möglich ist. Die TRPC1-7-knockout-Maus ermöglicht das Beobachten der vom TRPC-Kanal unbeeinflussten Funktion verschiedener Zelltypen und Geweben, was einen entscheidenden Schritt für die Erschließung dieser Kanäle als medizinisch-pharmakologischen Ansatzpunkt bedeutet. *Erwarteter Schaden für das Tier:* Ziel dieser Untersuchung ist es unter anderem zu klären, warum ein völliger Wegfall der TRPC-Ionenkanalproteinfamilie einen so unerwartet geringen Phänotyp in den Mäusen hervorruft. Aus der kurzen Periode der Beobachtung, die mit diesen Tieren in den USA verfügbar war, sind kaum bis keine Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere bekannt. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit bereits langjährig etablierten Methoden, die in dieser Form in unserer Einrichtung schon seit vielen Jahren angewandt werden und das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzen.

Erwarteter Nutzen: Diese transgenen Tiere stellen die erstmalige Gelegenheit dar, einen lebenden Organismus ohne auch nur einen der sieben bekannten TRPC Isoformen zu untersuchen. Dies ist wissenschaftlich von großer Bedeutung, da sich diese Ionenkanäle untereinander funktionell gegenseitig ersetzen können und daher Einzelprotein-KO-Experimente wenig Aussagekraft haben. Daher stellen Experimente mit diesen Tieren einen großen Wissensgewinn in Aussicht, der in weiterer Folge zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze in der Pharmakologie und Humanmedizin genutzt werden kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es sollen 400 Mäuse pro Jahr gezüchtet werden von denen ein Teil in Versuche einfließen soll. Eine Erhaltungszucht mit einer kleinen Anzahl von Mäusen wird weitergeführt. In Summe 3000 Mäuse.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Da TRPC-Ionenkanäle in vielen Zelltypen vorhanden sind, besteht die grundsätzliche Möglichkeit, dass sich im Versuchstier physiologische Phänomene in unterschiedlichen Geweben zeigen, welche in ihrer Ausprägung kaum vorhersehbar sind. Der Ansatz einer in-vivo Untersuchung ist somit der einzig mögliche Zugang, mit dem die allgemeine Bedeutung der TRPC-Ionenkanäle in Säugetieren erfasst werden kann.

Verminderung: Abgeleitet aus in vitro Daten und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Gleichzeitig sollen in allen Versuchen immer mehrere Parameter bestimmt werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal auszunutzen. Dies wird durch genaue Planung des Versuchsablaufs erreicht. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, es wird danach getrachtet, dass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche fließen. Die Überschaubarkeit der Zucht ermöglicht auch eine bessere Kontrolle und Versorgung der Tiere.

Verfeinerung: Die Tiere werden von geprüften Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Für das Wohlbefinden der Tiere wird ihnen Enrichment in Form von Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist die Wirksamkeit- und Stabilitätsprüfung des IXARIO-Impfstoffes zum Schutz einer Japanischen Enzephalitis (JEV) für die Freigabe der jeweilig produzierten Impfstoffchargen.

Der Schaden der Tiere liegt erheblich unter dem Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse. Die Wirksamkeitsstudien des Impfstoffes werden in einem gut etablierten Mausmodell durchgeführt bevor sie im Menschen eingesetzt werden. Bei allen geplanten Experimenten ist die Belastung der Versuchstiere als gering einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 16640 Mäuse innerhalb von zwei Jahren verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Testung des Impfstoffes wird einem gut etablierten und international akzeptierten Mausmodell unter Berücksichtigung aller Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung erreicht. Für die Erhaltung aussagekräftiger Resultate basiert die Versuchstierzahl auf langjähriger Erfahrung und ist für eine statistische Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Immunsystem ist ein anatomisch und funktional hochkomplexes Netzwerk aus dezentralen Organen und mobilen Zellen, die durch den gesamten Körper wandern und dabei permanent zwischen peripheren Geweben und lymphatischen Organen wechseln. Die Fähigkeit zur eigenständigen Bewegung von Zellen wird durch die Dynamik des Zytoskeletts gesteuert. Eine der wichtigsten Komponenten des Zytoskeletts ist das Aktinsystem, das durch den gezielten Auf- und Abbau von Proteinfasern nicht nur die Zellmotilität, sondern auch eine Vielzahl von intrazellulären Prozessen steuert. Beispiele sind die Aufnahme von extrazellulären Flüssigkeiten und Partikeln, die Anpassung der Zellform an die aktuellen Anforderungen, der gezielte Transport von subzellulären Organellen oder wichtiger Rezeptormoleküle in der Zellmembran u.v.a. mehr. Die hohe Bedeutung des Zytoskeletts für höhere Organismen kann auch an der verheerenden Wirkung verschiedener Gifte, z.B. Phalloidin des Knollenblätterpilzes, die in die Aktindynamik eingreifen, sowie verschiedener Erbkrankheiten (z.B. Muskeldystrophie, Kugelzellenanämie, Wiskott-Aldrich Syndrom) erkannt werden. Entsprechend komplex ist auch die Regulation der Zytoskelett-Dynamik, an der eine Vielzahl von Steuerungsproteinen beteiligt ist. Wegen der allgemeinen Bedeutung des Zytoskeletts ist es nicht verwunderlich, dass viele dieser Regulationskomponenten in allen Zellen vorkommen. Andere wiederum beschränken sich auf bestimmte Gruppen von Zellen mit spezialisierteren Aufgabenbereichen. So kommt z.B. HEM-1 nur in Zellen des hämatopoietischen Systems vor, das für die Bildung der roten Blutzellen und der Zellen des Immunsystems verantwortlich ist. Im Immunsystem führen funktionsstörende Mutationen in diesem Protein zu einer Vielzahl von zellulären Entwicklungs- und Funktionsstörungen, die bislang noch sehr wenig verstanden werden. Im vorliegenden Projekt sollen die Auswirkungen einer HEM1 Defizienz auf die Funktion des Immunsystems näher untersucht werden. Wegen der komplexen dezentralen Organisation des Immunsystems können solche Untersuchungen nur am intakten Gesamtorganismus vorgenommen werden und erfordern daher die Verwendung von Tiermodellen. Hierzu werden verschiedene gentechnisch veränderte Mausstämmen verwendet, in denen HEM1 in spezifischen Immunzellen, z.B. B- oder T-Lymphozyten oder dendritischen Zellen deletiert ist. In diesen Mäusen werden durch Immunisierung Immunreaktionen induziert und mit denen in genetisch intakten Mäusen verglichen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die Gesamtzahl der für das Projekt benötigten Tiere wurde statistisch auf das erforderliche Minimum von 828 Mäusen berechnet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Bei einigen Versuchen müssen Zellen des Immunsystems durch Bestrahlung der Tiere eliminiert und durch Knochenmarkszellen aus anderen Mäusen ersetzt werden. Die Bestrahlung kann während der ersten Tage danach eine geringe bis mittelschwere Belastung verursachen. In dieser Phase wird den Tieren der Zugang und die Aufnahme von Futter erleichtert, indem zusätzlich zum Trockenfutter in der Käfigraufe auch Feuchtfutter am Käfigboden angeboten wird. Nahrungsaufnahme, Verhalten und allgemeines Erscheinungsbild der Tiere werden in dieser Zeit mit besonderer Sorgfalt beobachtet, und dem vorübergehend erhöhten Infektionsrisiko wird durch die präventive Verabreichung von Antibiotika begegnet. Ansonsten ist die Belastung durch die experimentellen Eingriffe gering, etwa vergleichbar der in der Medizin üblichen Schutzimpfungen und Blutabnahmen. Die gentechnischen Veränderungen sind nach den bisherigen Erfahrungen unter laborüblichen Haltungsbedingungen symptomlos, sodass die daraus resultierenden Belastungen als gering angesehen werden können. Die aus dem Projekt erwarteten Erkenntnisse sollen zu einem vertieften Verständnis der Beteiligung des Zytoskeletts am Funktionieren des Immunsystems beitragen, dem für die Gesunderhaltung von Mensch und Tier eine zentrale Bedeutung zukommt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In diesem Projekt sollen 10 Monate alte transgene Tg2576 Mäuse für 4 Monate täglich oral mit einer Testsubstanz behandelt werden. Des Weiteren werden Tiere wöchentlich mit der Testsubstanz und Gantenerumab, einem monoklonalen Antikörper gegen Abeta behandelt um einen möglichen additiven Effekt der beiden Substanzen zu untersuchen. Als Kontrollen werden Tiere mit Vehikel oder mit Gantenerumab allein behandelt. Im Anschluss an die Behandlung werden die Tiere euthanasiert und das Gehirn, Blut und Zerebrospinalflüssigkeit entnommen. Das Gehirn wird histologische auf Plaques untersucht. Alle ungenutzten Gewebe werden dem Auftraggeber für weitere Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

zu erwartender Schaden und Nutzen: Neben Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3 % der Bevölkerung von 65-74 Jahren, 20 % der von 75-84 Jahren und 50 % der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich ca. 300 000 bis 700 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer-Krankheit sind. Durch diese Studie soll bewiesen werden, dass ein neuer γ -Sekretase-Inhibitor die löslichen Abeta-Konzentrationen und auch die Plaquedichte im Gehirn verringern kann und dass dieser Effekt durch die gleichzeitige Gabe von Gantenerumab, einem monoklonalen Antikörper gegen Abeta, verstärkt wird. Dadurch wird die Entwicklung einer neuen Behandlung gegen die Alzheimer'sche Krankheit gefördert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 165 männliche transgene Tg2576 Mäuse beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um die Alzheimer-Krankheit erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Gene zwischen Mensch und Maus sind meist sehr konserviert bzw. „homolog“ und haben die gleichen oder ähnlichen Funktionen in Mensch und Tier. Die Herstellung und Untersuchung transgener Mausmodelle (Mäuse mit Genmutationen) liefert einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der molekularen und biochemischen Veränderungen die ursächlich zur Entstehung vieler humaner Erkrankungen beitragen. Durch die Herstellung von Mäusen mit Verlust oder Überexpression von Genen ist es in der Vergangenheit gelungen Gene zu entschlüsseln, die eine wichtige Rolle im Fettstoffwechsel der Maus spielen. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass der Verlust eines Fett-spaltenden Proteins bei Mäusen zu einer schweren und tödlichen Herzverfettung führt. Basierend auf diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Mutationen in diesem Gen beim Menschen ebenfalls zu schweren metabolischen Erkrankungen führen einschließlich eine tödlichen Herzdysfunktion (welche mitunter eine Herztransplantation im Alter von 30 Jahren von Patienten erfordert), schwerer Lebersteatose, Verlust einer intakten Hautbarriere und der durch Tumorerkrankungen verursachten Kachexie („Auszehrung“, rapider Verlust von Fett- und Muskelmasse). Gleichzeitig lieferte die Charakterisierung dieser Mäuse eine mögliche therapeutische Intervention. Tatsächlich konnte die Verabreichung eines sogenannten Agonisten der den Fettstoffwechsel induziert den Gesundheitszustand von Patienten verbessern. Der vorliegende Antrag umfasst die weiterführende Charakterisierung dieser wertvollen Mausmodelle im Energiestoffwechsel hinsichtlich der Entstehung von metabolischen Erkrankungen. Zudem sollen neue Mausmodelle mit Gewebs-spezifischem Verlust von Fettabbauenden Enzymen (Lipasen) oder deren Ko-faktoren (Proteine die die Aktivität der Lipasen zusätzlich stimulieren oder inhibieren) untersucht werden. Diese dadurch gewonnenen Erkenntnisse können die Basis für therapeutische Ansätze in der Behandlung metabolischer Erkrankungen wie der Adipositas, Diabetes, Lebersteatose und Herz- und Kreislauferkrankungen im Menschen liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Wir suchen im vorliegenden Antrag (Laufzeit 5 Jahre) um die Zucht und Genotypisierung von insgesamt 4.605 Mäusen an, von denen 3.010 Mäuse für weitere Tierversuche herangezogen werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Belastung der Tiere durch Tierversuche wie z.B. Glukose- oder Insulintoleranztests, Untersuchungen der Herzfunktion, Blutabnahme oder Fasten der Tiere, um nur einige Versuche zu nennen, wird als „gering“ oder „mittel“ eingestuft. Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodel und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Projekt untersucht die Evolution multimodaler Signale basierend auf Verhaltensexperimenten, unter Beeinflussung von Gehirnschaltkreisen und Muskelphysiologie, bei den visuell signalisierenden Winkerfröschen. Zusätzlich zur bekannten akustischen Kommunikation bei Fröschen signalisieren Winkerfrösche ebenso mit Hilfe von visuellen Signalen. Das auffällige Beinwinken, bei dem für kurze Zeit eine hell gefärbte Schwimmhaut dem Rivalen präsentiert wird, gilt als innerartliches Signal. Diese spezielle Anpassung an lautstarke, schnellfließende Bergbäche konnte bereits für mehrere Arten aus verschiedenen Familien dokumentiert werden. Das visuelle Anzeigeverhalten benötigt vermutlich präzise Koordination von verschiedenen neuronalen Schaltkreisen und Muskelgruppen. Da das visuelle Signal speziell in Männchen-Männchen Kämpfen eingesetzt wird, geht unsere Hypothese davon aus, dass Hormone die Komplexität der Signale modulieren. Es sollen physiologische Manipulationen durchgeführt werden, die die Hormonaufnahme im Gehirn und Muskelgewebe behindern. Zwanzig Individuen der Winkerschaltkreise *Staurops parvus*, geteilt in vier Behandlungsgruppen zu je fünf Individuen, erhalten mittels intraperitoneal Injektion drei verschiedene Hormon Inhibitoren und eine Kontrollsubstanz. Im Anschluss wird das Verhalten der Tiere aufgezeichnet.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Tiere der Winkerschaltkreise *Staurops parvus*

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die zu testenden Individuen werden in Terrarien mit Wasser und ausreichenden Angebot an Sitz- und Schlafplätzen gehalten. Abgesehen von der Injektion erfolgt keine weitere Störung durch den Experimentator. Die Tiere werden täglich gefüttert und die Behandlungssubstanzen sind ungiftig und behindern weder die Gesundheit noch die weitere Entwicklung der Tiere.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Für gebäudebewohnende Fledermausarten stellen Stadt-Tauben (*Columba livia f. domestica*) in deren Quartieren ein Problem dar. Durch ständige Bewegung und eine erhöhte Geräuschbelastung werden diese empfindlichen Arten bei der Tagesruhe gestört. Besonders in Wochenstuben können diese Störungen eklatante Auswirkungen auf die Entwicklung der Kolonie haben. Ein weiteres Problem für diese Fledermausarten stellt die zunehmende Verschließung von Dachräumen in Kirchen, Schlössern und ähnlichen Gebäuden dar. Hierbei kann ebenfalls die Stadt-Taube als Mitverantwortlicher ausgemacht werden. Sie verursacht neben Lärm auch Schmutz und wird als Krankheitsüberträger vermutet. Durch den feuchten und klebrigen Guano stellt sie außerdem eine Gefährdung für technische Einrichtungen (z.B. Kirchenglocken und -uhren) in Dachräumen dar.

Von verschiedenen Behörden, Naturschutzorganisationen und Universitäten wurden daher Vorrichtungen entwickelt, die ein Eindringen von Tauben in Dachräume verhindern sollen, aber zugleich für Fledermäuse eine ständige Erreichbarkeit der Sommerquartiere sicherstellen. Diese Vorrichtungen reichen von aufwendigen Dachflächenfenstern bis hin zu simplen Draht- oder Brettkonstruktionen. Bislang gibt es jedoch keine wissenschaftliche Untersuchung sowohl zur Effektivität bei der Taubenabwehr als auch zur Passierbarkeit für Fledermäuse. Alle bekannten Empfehlungen beruhen auf Annahmen, Erfahrungswerten und nicht-systematischen Beobachtungen. Dieses Projekt soll somit erstmals wissenschaftliche Erkenntnisse über die Wirkung solcher Vorrichtungen liefern. Dabei werden sowohl Stadt-Tauben als auch vier Fledermausarten untersucht (*Rhinolophus hipposideros*, *Rhinolophus ferrumequinum*, *Myotis emarginatus*, *Myotis myotis*).

2. Art und Anzahl der Tiere

Für jede Fledermausart maximal 55 Individuen, von den Großen Hufeisennasen nur maximal 25 Individuen und in Pflege befindliche Stadt-Tauben.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Für jede Fledermausart werden nur so viele Individuen gefangen wie notwendig sind (maximal 55 Individuen) und von den besonders gefährdeten Großen Hufeisennasen werden nur maximal 25 Individuen gefangen und in einem Flugzelt (9 m²) freigelassen. Anschließend sollen die Tiere das Zelt durch die Vorrichtungen verlassen. Nach maximal einer halben Stunde wird ein Versuch abgebrochen und die Tiere umgehend freigelassen. Die Individuen erhalten die Möglichkeit sich an die Situation im Flugzelt zu gewöhnen bevor der Versuch gestartet und die Öffnung frei gegeben wird. Diese Zeit wird artabhängig bis zu einer halben Stunde (Große Hufeisennasen) betragen. Um Dehydration zu vermeiden, wird ein Gefäß mit Wasser zum Trinken zur Verfügung gestellt, zudem erhalten die Tiere die Möglichkeit sich an einem Tuch aufzuhängen. Dies ist für die Fledermäuse ebenfalls an den Zeltwänden möglich, welche aus einem dunklen luftdurchlässigen Material besteht. Neben der Durchführung durch erfahrene Fledermausfachleute werden die Versuche von Tierärzten begleitet. Außerdem werden Individuen der stark gefährdeten Großen Hufeisennase an Schwärmquartieren gefangen, wo ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen herrscht. So kann der Einfluss auf die Population minimiert werden und das letzte bekannte Sommerquartier dieser Art wird somit nicht belastet.

Bei den Versuchen mit Tauben werden in Pflege befindliche Stadt-Tauben verwendet. Diese werden in ihren Halte-Voliere untersucht. Sie sollen durch eine Öffnung in eine benachbarte gleich große Voliere gelangen. Auch hierbei werden ein Tierarzt und Tierpfleger anwesend sein. Alle Versuche - sowohl mit Tauben als auch mit Fledermäusen - werden videoüberwacht und aufgezeichnet. Dadurch werden keine doppelten Versuche und nur so wenige Tiere wie notwendig verwendet. Insgesamt ist die Belastung für die Tiere durch die vergleichsweise nur sehr geringe Intensität der Versuche, das Fehlen invasiver Techniken sowie bei den Fledermäusen durch die sehr geringe Dauer in der die einzelnen Individuen untersucht werden als minimal zu bezeichnen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Manche Hauterkrankungen sind durch Genveränderungen verursacht, welche zum Fehlen eines wichtigen Eiweißes in der Haut führen. Der momentan beste Heilungsansatz besteht in einer therapeutischen Intervention auf der Ebene der Erbinformation (Gene); das heißt, dass das veränderte Gen in der Haut korrigiert wird. In Folge dieser Therapie wird also das vorher fehlende Eiweiß wieder in die Haut eingeführt. Das neue Eiweiß kann vom Immunsystem als Fremdkörper (ähnlich einer Virusinfektion) erkannt werden. Diese Erkennung kann zu einer Abstoßung der therapeutisch veränderten Haut führen. Alternativ dazu ist auch die sogenannte Eiweißtherapie möglich. Bei dieser Therapieform wird das korrekte Eiweiß direkt per Injektion verabreicht, was ebenfalls das Risiko einer immunologischen Abstoßung des therapeutischen Eiweißes zur Folge haben kann. Ziel dieses Projektes ist es, ein Mausmodell zu entwickeln, welches es ermöglicht diese Immunantworten in Mäusen nachzustellen und zu studieren. Konkret wollen wir Immunreaktionen von Patienten mit Genveränderungen auf eine erfolgte Therapie untersuchen. Die Entwicklung unseres Mausmodells erlaubt uns, Studien mit Patientenmaterial durchzuführen und geeignete Begleitmaßnahmen (zB: Immun-Therapie) zu finden, um den Erfolg der Therapie zu erhöhen. Außerdem soll mit Hilfe dieses Mausmodells untersucht werden, ob die Art der Genveränderung die zu erwartende Immunantwort gegen das neu eingebrachte Eiweiß beeinflusst. Zusammenfassend haben unsere Studien das Ziel, die Immunantwort von Patienten mit genetischen Hauterkrankungen zu studieren, um eine Abstoßung gezielt zu verhindern und damit den Therapieerfolg sicher zu stellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere:

Belastungsgrad der Tiere: mittel

Behandlung der Tiere: intravenöse und intradermale Injektionen, Blutabnahmen und Hauttransplantationen (Operation unter Vollnarkose mit nachfolgender Schmerzbehandlung)

2. Art und Anzahl der Tiere

Anzahl beantragter Tiere: 1500

Art beantragter Tiere: Mus Musculus (Mausstamm NSG)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung:

Ziel dieses Projektes ist es, ein Mausmodell zu entwickeln, welches eine Vorhersage der Immunantwort eines Patienten gegen ein therapeutisches Eiweiß in der Haut erlaubt. Um dieses Ziel zu erreichen sind isolierte Organe ungeeignet, da bekannt ist, dass bei einer Immunreaktion gegenüber einem Eiweiß in einem Organ wie der Haut eine Vielzahl von verschiedenen Immunzellen involviert sind. Im Zuge einer Immunantwort wandern diese Zellen von Lymphknoten und Blut anschließend in das Zielgewebe (die Haut) ein. Dieser sehr komplexe Vorgang kann nicht im Reagenzglas nachgestellt werden, sondern benötigt einen vollständigen Organismus mit allen Gewebestrukturen. Daher ist die Erforschung von Immunantworten im Tierversuch unumgänglich.

Verminderung:

Die Anzahl an benötigten Tieren soll auf ein Mindestmaß reduziert werden. Die Tierzahl für das vorliegende Projekt resultiert aus dem Studiendesign, der Gruppengröße und der Anzahl an benötigten Kontrollen (nach wissenschaftlichen Kriterien).

Verfeinerung:

Die Belastung für das Labortier soll auf das unablässige Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Forderung durch artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, die Sachkunde der beteiligten Personen, optimale Operationstechniken durch geschulte Experimentatoren und geeignete post-operative Betreuung (Schmerzbehandlung).

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Es gibt immer noch einen großen Bedarf an neuen Impfstoffen gegen Infektionskrankheiten. In diesem Projekt soll ein viraler Impfvektor als Plattform für die Entwicklung von Impfstoffen gegen verschiedene Infektionskrankheiten entwickelt werden. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt. Es ist zu erwarten, dass ein Teil der Tiere Grippe-ähnliche Symptome, eine vergrößerte Milz oder einen Atemwegsinfekt entwickelt.

Durch dieses Projekt wird es uns möglich sein, verlässliche Aussagen über die Wirksamkeit und möglichen Gefahren des neuen Impfstoffes bei einer Anwendung im Patienten treffen. Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns wichtige Informationen für die Weiterentwicklung unseres neuen Therapiekonzepts zur klinischen Anwendung hin geben.

2. Art und Anzahl der Tiere

In den Experimenten und für Zuchten werden insgesamt maximal 2730 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt. Parallel zu den Tierexperimenten werden weitere Zellkulturexperimente durchgeführt, um die Mäusezahlen so gering wie möglich zu halten. Alle Experimente sind so geplant, dass die Belastung für die Tiere möglichst gering ist. Alle Personen, die die Experimente durchführen sind entsprechend geschult. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Wie aus der Literatur bekannt, führen Fumonisine zu Leistungseinbußen und pathologischen Veränderungen im Atmungstrakt (Lungenödeme) und wirken hepato- und nephrotoxisch. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von Fumonisin im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, wird unser Hauptaugenmerk auf biologische Entgiftung in Form von Enzymen gelegt. Diese Enzyme sollen im Zuge der Nahrungsaufnahme zur Detoxifikation des Mykotoxins im Schwein führen. Die Aktivität des Enzyms wurde in vivo und in vitro bestätigt.

Dieser Versuch soll Aufschluss geben, welche Enzymformulierungen am effektivsten bzw. welche Konzentrationen noch ausreichend sind, um eine Entgiftung des Mykotoxins im Verdauungstrakt von Schweinen nach Zugabe zum Futter zu bewirken. Diese Fragestellung soll anhand des Verhältnisses von Sphingarin/Sphingosin im Serum und Kot, welche in der Literatur als verlässlicher Biomarker beschrieben sind, beantwortet werden. Die daraus gewonnenen Resultate leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus im Schwein. In dem Versuch werden 2 unterschiedlich zusammengesetzte FUMzyme Formulierungen mit jeweils 2 verschiedenen Konzentrationen dem Futtermittel, welches mit künstlich hergestellten Fumonisin (5 ppm – Endkonzentration im Fertigfutter) kontaminiert ist, zugesetzt. Zusätzlich werden eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt. Bei der eingesetzten Fumonisin Konzentration von 5 ppm sind keine klinischen Krankheitserscheinungen zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Absatzferkel (Suis suis).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Replacement: Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der notwendigen Biomarker in Blut und Kot nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Reduction: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (3 weibliche und 3 männliche) je Gruppe verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

Refinement: Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerz zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind derzeit die zweithäufigste Todesursache in den entwickelten Ländern. Die aktuellen Behandlungsstrategien sind mäßig wirksam und zeigen häufig schwere Nebenwirkungen. Das Ziel dieses Projektes ist es, eine möglicherweise neue Therapie Möglichkeit für Behandlung der Herz-Kreislauf-Erkrankung zu testen.

zu erwartender Nutzen:

Diese Ergebnisse können auf die Krankheiten bei Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Es ist zu erwarten, dass durch diese Ergebnisse die neuen Therapien auch wenige Nebenwirkungen haben werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere:

Die Tiere entwickeln die Symptome die der menschlichen Erkrankung ähnlich sind wie z.B. erhöhter Blutdruck, eingeschränkte körperliche Leistungsfähigkeit oder die Zahl der Atemzüge der Tiere unter Belastung kann leicht erhöht werden, sie können sich aber gut anpassen. Die Tiere erfahren möglicherweise kurzzeitigen milden Schmerz (z.B. bei der Injektion der Anästhetika für die Vorbereitung der Narkose).

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt 1088

Ratten, insgesamt 48

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Herz-Kreislauf-Krankheiten umfassen eine komplexe Gruppe von Krankheiten, die verschiedene Organe betreffen. Das hämodynamische Wechselspiel zwischen diesen Organen, neurohormonale Aktivierung und der Beitrag der verschiedenen Zelltypen, machen Tierversuche unerlässlich, um diese Krankheiten zu studieren, da keine Alternativen außer dem Einsatz von Tierversuchen in diesem Bereich veröffentlicht sind. Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern, schlagen wir einen experimentellen Aufbau vor, der die Anzahl der Kontrollgruppen reduziert. Zusätzliche Reduzierung der Tieranzahl erfolgt durch eine optimierte Zuchtstrategie. Darüber hinaus wird die Anzahl der Tiere pro Gruppe durch die Erhöhung der Anzahl der verschiedenen Parameter, die an einem einzelnen Tier gemessen werden, gesenkt. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Eisen nimmt im gegenseitigen Wechselspiel von infektiösen Erregern und Wirtsorganismus eine zentrale Rolle ein. Bakterien und andere Erreger benötigen Eisen für Stoffwechsel und Vermehrung. Der Wirtsorganismus versucht daher durch verschiedene Mechanismen, infektiösen Erregern Eisen zu entziehen. Die körpereigene Abwehr infektiöser Erreger beruht auf dem orchestrierten Zusammenspiel verschiedener Typen von Abwehrzellen, das durch direkten Kontakt oder durch lösliche Eiweißmoleküle gesteuert wird. Eisen fördert einerseits die Vermehrung von infektiösen Erregern, und beeinflusst andererseits viele Aspekte der Immunantwort. Immunzellen benötigen ausreichende Mengen an Eisen für die Zellteilung und als Kofaktor für eine Reihe von antimikrobiellen Abwehrmechanismen. Andererseits hemmt ein Zuviel an Eisen bestimmte Abwehrmechanismen und verschiebt das Gleichgewicht von entzündungsfördernden und entzündungshemmenden zu Gunsten der letzteren, sodass die Elimination infektiöser Erreger verschlechtert wird. Grundlegende Ergebnisse zum Wechselspiel von Eisenstoffwechsel und Immunantwort können in Zellkulturversuchen (in vitro) gewonnen werden und wurden für das beantragte Tierversuchsvorhaben bereits sorgsam und detailliert erhoben. Um aber auch das orchestrierte Zusammenspiel verschiedener Gruppen von Immunzellen im Falle einer Infektion eines eisenüberladenen Wirtsorganismus mit einem eisenabhängigen Erreger zu erforschen und zu verstehen, sind ergänzend auch in vivo Versuche mit Mäusen notwendig.

Die Konfrontation mit einem infektiösen Erreger kann im Rahmen der Immunantwort zur Beeinträchtigung von Allgemeinzustand, Trinkwasser- und Nahrungsaufnahme der Versuchstiere führen. Jedoch werden unsere Mäuse von geprüften TierpflegerInnen und einer Tierärztin fachgerecht betreut sowie Allgemeinzustand, Trinkwasser- und Nahrungsverbrauch täglich mehrmals kontrolliert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen des Projektes werden Mäuse eingeschlossen, denen ein spezifisches Eisen-bindendes Protein fehlt, sodass sie Bakterien weniger effektiv Eisen entziehen können. Als Erreger wird eine genau definierte Zahl von Salmonellen verwendet. Neben konventionellen Salmonellen werden Bakterien verwendet, denen ein spezifisches Eisenaufnahmesystem fehlt.

Um möglichst wenig Mäuse in das Projekt einschließen zu müssen, aber auch gleichzeitig eine verwertbare statistische Aussage tätigen zu können, werden die Tierzahlen anhand anderer in diesem Wissenschaftsbereich bereits publizierter Projekte berechnet. Außerdem besitzt unsere Arbeitsgruppe auf diesem Gebiet eine langjährige Erfahrung um die Gruppen so klein wie möglich zu halten. Insgesamt sollen in mehreren Versuchsreihen 192 Mäuse in das Projekt eingeschlossen werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Eine genaue Datenaufzeichnung und die Messung möglichst vieler Parameter führen weiters dazu, dass die Versuchsreihen nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen. Die geplante genaue Datenaufzeichnung wird zu einer deutlichen Verbesserung der Planbarkeit ev. weiterer Projekte führen, was auch helfen soll, die verwendeten Tierzahlen weiter zu reduzieren.

Zusammenfassend soll dieses Projekt helfen, die wechselseitigen Einflüsse von Immunantwort und Eisenstoffwechsel zu erforschen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad schwer zuzuordnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die zu untersuchenden Tiere sind 396 Ratten.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Ängste und Leiden möglichst verhindert wird.

Eine rückblickende Bewertung ist nach Abschluss des Projekts, im Jahr 2017, vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Im Rahmen dieses Workshops werden Standards der Leber-und Gallenwegschirurgie aufbauend auf eine effiziente präoperative Abklärung mittels bildgebender Verfahren, Grundlagen der Labordiagnostik und spezielle diagnostische Verfahren vorgetragen. In der Folge wird die Pathologie, beginnend mit der präoperativen Beurteilung von Stanz-und Feinnadelbiopsien bis zur histologischen Begutachtung der Operationspräparate abgehandelt. Besonderes Augenmerk wird auf die spezielle chirurgische Anatomie mit ihren vielfältigen Variationen dieser Region und der damit verbundenen Problematik für den ausführenden Chirurgen gelegt. Der Schwerpunkt der Veranstaltung liegt in den speziell chirurgischen Kapiteln wie Indikationsstellung, Resektionsverfahren an der Leber und an den intra-und extrahepatischen Gallenwegen. Ein spezielles Kapitel ist den chirurgischen Prinzipien bei der Versorgung von Lebertraumen gewidmet. Ebenso werden auch mögliche laparoskopische Techniken im Rahmen der Leberchirurgie vorgezeigt.

2. Art und Anzahl der Tiere

34 *Sus domesticus* (Hausschweine)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, werden alle Übungen im Rahmen dieses Workshops, die auch an einem humanen Kadaver vorgeübt werden können, an diesen durchgeführt. Zum Erlernen der therapeutischen Schritte an einzelnen Organen ist jedoch normal perfundiertes und organisch zusammenhängendes Gewebe notwendig. Somit ist der beantragte Tierversuch unumgänglich, weil dafür weltweit keine suffiziente Ersatzmethode vorhanden ist. Alle chirurgischen Eingriffe werden am vollnarkotisierten Tier ausgeführt ohne Wiederherstellung der Lebensfunktion. Alle Tiere werden eine mindestens 14tägige Eingewöhnungsphase in den Stallungen haben um die Stressbelastung zu minimieren. Sie werden von regelmäßig geschulten Tierpflegern und Veterinärmedizinerinnen betreut und überwacht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel der beantragten Tierversuche ist die Ausbildung von Personen im Umgang mit und der experimentellen Nutzung von Labortieren.

zu erwartender Nutzen: Den Teilnehmerinnen sollen Fähigkeiten und Kenntnisse zur Biologie und Haltung von Labortieren sowie der fachgerechten Durchführung tierexperimenteller Prozeduren vermittelt werden. Eine einheitlich grundlegende Ausbildung für Personen, die später im Beruf versuchstierkundlich arbeiten werden, ist notwendig und wichtig.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Durch die Teilnehmerinnen vorgenommene Übungen und Behandlungen sind für die Tiere höchstens gering belastend. Die Durchführung der experimentellen Techniken und Methoden erfolgt nur unter Aufsicht erfahrener Personen, sodass diese die getätigten Maßnahmen zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Projekt sind alle Tiere für einen Ausbildungszeitraum von 5 Jahren zusammengefasst. Benötigt werden insgesamt 1940 Labormäuse, da diese Spezies mit ca. 80% die am häufigsten verwendete Labortierart ist.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Durch den erweiterten Einsatz spezieller Lehrmittel (Filmmaterial, Dummies, Demonstration experimenteller Techniken) wird dem Gedanken der Vermeidung im Sinne der 3R Rechnung getragen.

Verminderung: Die praktische Arbeit ist so konzipiert, dass die Anzahl der benötigten Tiere pro auszubildender Person auf das Minimum beschränkt ist, ohne die Belastung für das Einzeltier zu erhöhen.

Verfeinerung: Die Lehrinhalte der im vorliegenden Antrag genannten Kurse umfassen das praktische Arbeiten mit Labortieren, bei welchem durch fachgerechte Versuchsdurchführung ein möglichst schonender Umgang mit den Tieren erlernt werden soll. Die Auswahl der Techniken und Methoden, die von den Teilnehmerinnen selbst ausgeführt werden, beschränken sich auf solche, die für die Tiere nur in geringer Weise belastend sind.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Als neuropathische Schmerzen bezeichnet man Schmerzen, die durch eine Läsion oder eine Dysfunktion des Nervensystems (Neuropathie) verursacht werden. Charakteristisch sind anfallartige, einschneidende starke Schmerzen, die häufig als brennend, stechend oder auch dumpf beschrieben werden. Zudem gehen Neuropathien mit Allodynie (Wahrnehmung von Schmerzen bei einem normalerweise harmlosen Stimulus) oder Hyperalgesie (übersteigerte Reaktion auf jeglichen schmerzhaften Stimulus) einher. Als zugrundeliegende Ursachen wurden bisher Infektionen, Entzündungen, Traumata, metabolische Störungen oder Neurotoxine identifiziert. Die häufigste Ursache für Neuropathien und neuropathische Schmerzen ist Diabetes mellitus (DM). Im Jahr 2013 lag die Prävalenz in Österreich bei 8-9%. 30% der österreichischen DM-Patienten sind von diabetischen Neuropathien betroffen, und davon leiden 20-50% unter mäßigen bis schweren neuropathischen Schmerzen. Die diabetische Neuropathie führt zu den meisten Krankenhausaufenthalten verglichen mit allen anderen Komplikationen des Diabetes und es ist die häufigste Form einer Neuropathie in der westlichen Welt. Der Großteil dieser Patienten ist auf eine Vielzahl an Medikamenten angewiesen, welche erhebliche Nebenwirkungen aufweisen, und trotzdem ist nur eine sub-optimale Behandlung der Schmerzen möglich. Dies zeigt deutlich, dass in der Klinik ein dringender Bedarf an besseren und vor allem effektiveren Behandlungsmethoden für neuropathische Schmerzen besteht. Daher ist die Erforschung von Substanzen, welche einen positiven Effekt auf neuropathische Schmerzen haben, von äußerster klinischer Relevanz. Ein viel versprechender Kandidat hierfür ist das Galanin-System. In der Vergangenheit wurde gezeigt, dass das kleine Einweißhormon (Neuropeptid) Galanin (GAL) vor allem nach Verletzungen ausgeschüttet wird und eine wichtige Rolle in der Regeneration übernimmt. In Bezug auf neuropathische Schmerzen konnten GAL antiallodynsche Wirkungen nachgewiesen werden, welche vor allem über den GAL2 Rezeptor vermittelt werden. In Hirnregionen, welche für neuropathische Schmerzen relevant sind, konnte auch die Expression von GAL3 Rezeptoren nachgewiesen werden. Deswegen stellen wir die Hypothese auf, dass auch der GAL3 Rezeptor beim neuropathischen Schmerz eine Rolle einnimmt. Dazu werden in GAL3 Rezeptor Knockout (GAL3-KO) und Wildtyp (WT) Mäusen neuropathische Schmerzen ausgelöst und anschließend über die Dauer von 14 Tagen deren mechanische und thermische Nozizeption gemessen und miteinander verglichen. Da aus der Literatur bekannt ist, dass GAL Rezeptoren Rezeptordimere ausbilden können und dass im GALSystem kompensatorische Mechanismen auftreten, falls einer der drei GAL-Rezeptoren (GAL1-3 Rezeptor) fehlt, nehmen wir an, dass sich das gleichzeitige Fehlen von GAL2 und GAL3 Rezeptoren additiv auf die Antiallodynie auswirkt. Dazu werden wir auch in GAL2/3-KO Mäusen neuropathische Schmerzen auslösen und deren mechanische und thermische Nozizeption über 14 Tage lang messen. Als Mausmodell wählen wir das standardisierte und gut validierte Modell der "verschonten Nervenverletzung" (Spared Nerve Injury, SNI). Das Schmerzverhalten in diesem Modell ist analog zu den neuropathischen Schmerzzuständen, welche beim Menschen in der Klinik beobachtet werden. Die Schmerzen, welche die Tiere in diesem Mausmodell verspüren, sind als milde bis moderat einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

158 Mäuse (*Mus musculus*)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da diese Studie zum Ziel hat die Rolle des GAL3 Rezeptors bei neuropathischen Schmerzen zu untersuchen, sind *in vivo* Studien an wachen Tieren essentiell. Es ist ethisch nicht vertretbar am Menschen Experimente durchzuführen, welche Schmerzen verursachen, besonders wenn in diesen Experimenten Nervenbahnen verletzt oder sogar zerstört werden. Deswegen gibt es keine geeignete Alternative, die es ermöglicht die Verwendung von Tieren zu vermeiden und dennoch das Ziel der Studie zu erreichen. Die Maus (*Mus musculus*) ist die niedrigste empfindungsfähige Spezies, welche

für diese Untersuchungen geeignet ist. Um valide Ergebnisse aus den Experimenten zu erhalten und um schließlich eindeutige Schlussfolgerungen bezüglich der Beteiligung des GAL3 Rezeptors bei Schmerzen ziehen zu können, darf eine gewisse Anzahl an Versuchstieren nicht unterschritten werden. Es wird nur die Mindestanzahl an Tieren verwendet, die für statistisch valide Aussagen benötigt wird. Zur Berechnung der benötigten Anzahl der Tiere wurde das Programm G Power verwendet. Kommen chirurgische Eingriffe zur Anwendung (hier: Spared Nerve Injury (SNI) als Modell für neuropathische Schmerzen) kann auf die Verwendung von schein operierten Tieren (sham-Gruppe) nicht verzichtet werden. Diese sham-Gruppe ist notwendig, um kontrollieren zu können, dass weder die Anästhesie noch der chirurgische Eingriff selbst zu einer Beeinflussung der Schmerzsensibilität führen. Durch den hier benötigten chirurgischen Eingriff werden alle Tiere (auch sham-operierte Tiere) post-operative Schmerzen bzw. Unannehmlichkeiten empfinden. Der Einsatz von post-operativer Analgesie zur Linderung dieser Beschwerden, ist nicht möglich, da dadurch das Schmerzempfinden beeinflusst wird, welches aber in der vorliegenden Studie untersucht werden soll. Die Belastung während der Schmerztests kann als wenig bis mittelmäßig eingestuft werden. Es ist nicht notwendig starke Schmerzen zu verursachen. Ein Schmerztest ist nur von kurzer Dauer und es wird darauf geachtet, dass die kumulative Dauer der Testungen so kurz wie möglich gehalten wird. Alle behandelten Tiere werden ständig engmaschig anhand eines Untersuchungsbogens kontrolliert. Sollte ein Tier mit einer Punktzahl >12 eingestuft werden, wird es schmerzfrei euthanasiert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Häufigkeit von Herz-Kreislauferkrankungen nimmt nicht nur in den Industrieländern immer mehr zu und stellt inzwischen die Gesundheitssysteme weltweit vor große Herausforderungen. Die Hauptrisikofaktoren sind Bluthochdruck, Durchblutungsstörungen aufgrund verengter Coronargefäße, erhöhte Blutfettwerte, Diabetes und Adipositas sowie genetische Prädisposition. Besonders bemerkenswert ist, dass trotz intensiver medizinischer Intervention sowohl die Erkrankungshäufigkeit als auch die Sterblichkeit konstant hoch bleiben. Deshalb besteht dringender Bedarf an der Aufklärung molekularer Mechanismen, die bei der Entstehung dieser Erkrankungen eine Rolle spielen bzw. den Krankheitsverlauf vorantreiben; eine genauere Einsicht in diese Prozesse könnte neue Ansatzpunkte aufzeigen, die es ermöglichen, Herz-Kreislauferkrankungen in Zukunft früher zu erkennen und effektiver zu behandeln.

Im Brennpunkt aktueller Forschung steht auch die Untersuchung möglicher Zusammenhänge zwischen einer vorliegendem Herzerkrankung und dem verstärkten Auftreten von Sauerstoffradikalen und Entzündungsprozessen im Herzgewebe einerseits und Beeinträchtigungen des Zellstoffwechsels andererseits, die die Regenerationsfähigkeit des Myocards mindern und so zu einer Schwächung des Herzgewebes und damit letztlich zu einer zunehmenden Einschränkung der Herzfunktion führen.

In diesem Umfeld soll im vorliegenden Projekt die Rolle des Hormons Fgf23 untersucht werden, das seit einigen Jahren Gegenstand intensiver Forschung ist. Dabei hat sich gezeigt, dass das System aus Fgf23 (das im Knochen synthetisiert wird), seinem Rezeptor und seinem Korezeptor Klotho nicht nur eine wichtige Rolle bei der Regulation der Phosphatausscheidung in der Niere und der Vitamin D-Produktion spielt. Neue Forschungsergebnisse belegen, dass der bei chronischer Niereninsuffizienz typischerweise erhöhte Phosphatspiegel im Blut die Fgf23-Sekretion stimuliert und dass der im Blut messbare Fgf23-Spiegel nicht nur korreliert ist mit dem Schweregrad der Nierenschädigung, sondern auch mit der Häufigkeit und Schwere von Herz-Kreislauferkrankungen wie z. B. der Linksherzinsuffizienz, die zu den typischen Folgeerscheinungen einer chronischen Niereninsuffizienz zählt und letztlich häufig zum Tod durch Herzversagen führt.

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass auch unabhängig von einer Nierenfunktionsstörung eine konkrete Korrelation zwischen dem Fgf23-Spiegel und wichtigen Parametern der Herzfunktion sowie einem erhöhten Risiko für eine Herz-Kreislauferkrankung besteht, was darauf hindeutet, dass Fgf23 - außer seiner Funktion im Mineralstoffwechsel - eine eigenständige Rolle bei der Entstehung und Pathogenese dieser Krankheiten spielen könnte.

Ein Einblick in die Mechanismen, die hinter diesem beobachteten Zusammenhang stehen, könnte nicht nur dazu beitragen, dass Fgf23 als "Biomarker" zur Früherkennung genutzt werden kann, sondern darüber hinaus auch neue Möglichkeiten der Prävention und Therapie von Herz-Kreislauferkrankungen eröffnen.

Das angestrebte Ziel kann leider nicht allein durch die Auswertung klinischer Studien erreicht werden, sondern nur durch ein Tiermodell, in dem an standardisierten Probanden zu einem vorgegebenen Zeitpunkt eine Herzerkrankung induziert wird, sodass der gesamte Krankheitsverlauf, zu verschiedenen Zeitpunkten an einer genügend großen Tierzahl zur statistischen Absicherung untersucht werden kann. Von den insgesamt für Experimente vorgesehenen 1092 Tieren werden maximal 666 Tiere einem als "schwer" eingestuften Verfahren unterzogen, bei den übrigen Tieren handelt es sich um die statistisch erforderlichen Kontrolltiere (keine oder "Schein-"OP). Zusätzlich müssen noch viele der in der Zucht verwendeten Tiere genotypisiert werden (geringe Belastung).

Die Rechtfertigung für dieses Vorhaben ergibt sich aus der Aussagekraft einer nach den beschriebenen Vorgaben durchgeführten Studie sowie dem möglichen Nutzen, der daraus für eine Vielzahl kranker Menschen entstehen kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Vorgesehen ist die Verwendung von Mäusen, wobei ein Großteil der Experimente an Tieren vorgenommen werden soll, die in Bezug auf verschiedene für die Fragestellung relevante Parameter gentechnisch verändert wurden. Da für das Projekt aufgrund der besseren Standardisierbarkeit nur männliche Tiere verwendet werden sollen und da die erforderlichen Genotypvarianten nicht gezielt erzeugt werden können, sondern gemäß den Mendelschen Regeln in den gewünschten Kombination nur bei einem Teil der produzierten Tiere auftreten, übersteigt die Zahl der für diese Projekt zu produzierenden Tiere die der tatsächlich in Versuch genommenen Mäuse bei weitem:

Insgesamt sollen maximal 588 gentechnisch veränderte und 504 Wildtyp-Mäuse verwendet werden (=1092 Tiere). Für die Bereitstellung dieser Tiere müssen insgesamt maximal ca. 9800 Mäuse erzeugt werden.

Bei diesen Angaben handelt es sich um Maximalzahlen, die eine größere Anzahl von Reservetieren beinhalten, sodass die Summe der tatsächlich mittel oder schwer belasteten Tiere mit hoher Wahrscheinlichkeit viel niedriger liegen wird.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Für Projekte, die sich mit den Wechselwirkungen verschiedener Organsysteme im Zeitverlauf beschäftigen, ist die Verwendung lebender Tiere nach wie vor unverzichtbar. *In-vitro*-Technologien werden soweit als möglich als Ergänzung herangezogen, können den eigentlichen Tierversuch aber nicht ersetzen. Alle Experimente werden von Personen durchgeführt, die mit den geplanten Maßnahmen große Erfahrung haben, sodass es möglich sein wird, sowohl die Tierzahl an sich als auch die Belastung für das einzelne Tier so gering wie möglich zu halten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

An Epilepsie erkranken zwischen 0.5 und 1% der Menschen irgendwann im Laufe ihres Lebens. Damit stellt Epilepsie eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen dar. Das Risiko an Epilepsie zu erkranken ist dabei im ersten Lebensjahrzent relativ hoch, danach fällt es deutlich ab. Mit dem Alter, ab ca. 60 Jahren nimmt das Erkrankungsrisiko dann aber wieder beträchtlich zu, um im hohen Alter Maximalwerte zu erreichen. Im Alter überwiegt die sogenannte erworbene Epilepsie, die zumeist Folge einer Schädigung von Blutgefäßen im Gehirn ist (z.B. im Zusammenhang mit Schlaganfall, Trauma, Gehirnblutung) sind. Bei diesen erworbenen Epilepsieformen treten die Anfälle typischerweise erst nach einer Latenzzeit auf. In dieser Phase kommt es offensichtlich zu den Epilepsie-auslösenden Veränderungen, die unter dem Begriff Epileptogenese zusammengefasst werden. Die Latenzzeit bietet damit aber auch die Chance zur therapeutischen Intervention. Paroxysmale Depolarisationsschübe (PDS) werden in letzter Zeit als wesentliche epileptogene Ereignisse verstanden und deren Verhinderung könnte einen wesentlichen Ansatzpunkt für anti-epileptogene therapeutische Massnahmen darstellen.

PDS können auch in neuronalen Zellkulturen experimentell *in-vitro* ausgelöst und deren Entstehung untersucht werden. Für diese *in-vitro* Untersuchungen werden Gehirnzellen von neugeborenen Mäusen zweier transgener Linien eingesetzt; diese Neugeborenen werden innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt ohne weitere Manipulationen schmerzlos getötet. Aus dem Gehirn eines einzigen Tieres können Dutzende von Kulturschalen angelegt werden, die dann für mehrere Wochen für die Forschungsarbeit zur Verfügung stehen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Zucht und Erhaltung der zwei genetisch unterschiedlichen transgenen Mauslinien werden jeweils 18 Elterntiere für die Zucht und die Erhaltung benötigt. Aufgrund der zu erwartenden Wurfanzahl und der durchschnittlichen Wurfgröße sind pro Mauslinie ca.150 Jungtiere pro Jahr für die Zucht und 120 Jungtiere für die Erhaltung vorgesehen.

In drei Jahren ergibt sich damit eine Gesamtanzahl an Tieren von 846 pro Mauslinie, mal 2 Mauslinien somit 1692 Tiere.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Replacement (Vermeidung): Die Untersuchungen finden in neuronalen Zell/Gewebekulturen statt.

Refinement (Verfeinerung): Die Elterntiere werden unter standardisierten Bedingungen spezifisch pathogenfrei unter Verwendung einzelbelüfteter Käfige gehalten.

Reduction (Verminderung): Die Anzahl der Zuchttiere wird auf die erforderliche Anzahl der benötigten Zell/Gewebekulturen abgestimmt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Sauerstoffmangel führt zum Untergang von vitalem Herzmuskelgewebe. Daraus resultiert eine verminderte Auswurfleistung und führt damit zu einer massiven Beeinträchtigung der Lebensqualität der betroffenen Patienten. Die Prognose dieser sog. ischämischen Kardiomyopathie ist selbst bei optimaler chirurgischer Behandlung dramatisch limitiert: 50% aller Erkrankten sterben innerhalb von 4 Jahren.

Nach einer Herz-Bypassoperation bestimmt die Vitalität des Herzmuskels das Überleben und die mögliche funktionelle Verbesserung der Patienten. Diffuse Herzkranzgefäßerkrankung und nicht vitales Herzmuskelgewebe sind limitierende Faktoren des chirurgischen Eingriffs. Adjuvante Therapien, die zusätzlich Angiogenese (=Gefäßaussprossung) bzw. Vasculogenese (=Gefäßneubildung) induzieren und dadurch die Herzleistung steigern, könnten das Langzeitüberleben und auch die Lebensqualität von Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie dramatisch verbessern.

Stoßwellentherapie ist mittlerweile bekannt dafür, Gefäßneubildung zu induzieren. Die beschriebenen Effekte könnten das Überleben und die Lebensqualität der zu therapierenden Herzinfarktpatienten dramatisch verbessern. Der Wirkmechanismus der Stoßwellentherapie ist allerdings noch unbekannt und soll im vorliegenden Projekt aufgeklärt werden.

Der zu erwartende Schaden für die Tiere bzw. deren Belastung ist aufgrund des operativen Eingriffs und des Herzinfarktes als hochgradig einzustufen. Die Belastung wird nach bester Möglichkeit durch intensive postoperative Betreuung, Schmerztherapie und mehrfach tägliche Visiten reduziert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden Mäuse für die angestrebten Versuche verwendet. Darunter werden sich mehrere Modelle von sog. knock-out Mäusen befinden. Deren gentechnische Veränderung wird die Aufklärung exakter molekularer Mechanismen der Stoßwellentherapie im Herzinfarkt ermöglichen. Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 313 Mäuse verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise den sog. Tube formation assay oder auch den Aortic ring assay als Angiogenesenachweise.

Verminderung: Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wurde der darauffolgende Schritt und daher die Verwendung weiterer Tiere durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird, aber keine adäquaten Ergebnisse erzielt werden.

Verfeinerung: Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das metabolische Syndrom ist mit chronischen Entzündungen und mit erhöhter Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in adipösem Fettgewebe assoziiert. Die erhöhte Radikalbelastung kann bei Adipösen die körpereigene antioxidative Kapazität übersteigen. Dies führt zu DNA-Schäden, die von Reparatursystemen nicht mehr beseitigt werden können. Nahrungsinhaltsstoffe mit antioxidativen Eigenschaften wie Vitamin E, EGCG (Epigallocatechingallat aus grünen Tee) oder Equol (enthalten in Sojaprodukten) können diese Schäden verhindern. Mäusen wird nach einer zweiwöchigen Akklimatisierung eine fettreiche Diät bzw. eine Vergleichsdiät gefüttert. Den Tieren werden unterschiedliche antioxidative Substanzen (Vitamin E, EGCG und Equol) in gelöster Form über das Trinkwasser für einen Zeitraum von 4 Monaten verabreicht. Die Mäuse werden stressfrei getötet und in Blutproben, Fettgewebe, Darmmukosa und Leberzellen wird die epigenetische Methylierung und Expression von Entzündungsmediatoren analysiert. Die Ergebnisse des Projektes werden das Verständnis von metabolischem Syndrom (Fettleibigkeit, Bluthochdruck, veränderte Blutfettwerte und Insulinresistenz) stärken und eine bessere Einschätzung von Interventionsstrategien mit ausgewählten Substanzen gegen chronische Entzündungen ermöglichen. Diese Experimente bilden die Voraussetzung für die Durchführung von zukünftigen präventiven Humanstudien.

2. Art und Anzahl der Tiere

Bis maximal 340 Mäuse.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Eine Verminderung der Tierzahlen wird durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen erzielt, damit kommt es zu einer Verringerung der Streuung der Versuchsergebnisse. Die benötigten Tierzahlen wurden mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Unsere Versuchsplanung ist außerdem so festgelegt, dass die Belastungen für die Tiere möglichst gering gehalten werden. Über die Versuchsdauer hin sind keine gesundheitlichen Beeinträchtigungen zu erwarten. Die Mäuse werden durch erfahrenes und zertifiziertes Personal fachgerecht gepflegt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems. Diese Krankheit tritt weltweit auf und von 100.000 Menschen erkranken jährlich ca. 1-3 neu an ALS, dabei sind Männer häufiger betroffen als Frauen (1,5:1). Untersuchungen der letzten 10 Jahre zeigen, dass in den meisten sporadischen ALS Fällen eine Mutation im Gen TDP-43 auftritt. Die TDP-43 induzierte Pathologie kann im ganzen Gehirn beobachtet werden. Hauptsächlich jedoch im Motorkortex und Rückenmark, sowie sekundär in den Basalganglien und Thalamus. Durch die Mutation wird das Protein unlöslich wodurch es zu Einlagerungen von TDP-43 im Zytoplasma kommt und gleichzeitig einem Fehlen des Proteins im Nukleus. Des Weiteren kommt es auf molekularer Ebene zu Hyperphosphorylierung, Ubiquitinierung und Spaltung des Proteins in mehrere Fragmente. Diese Veränderungen führen zu einer verstärkten Sterblichkeit der betroffenen Zellen. Außerdem wird Astroglie und Mikroglie in den betroffenen Hirnarealen aktiviert, was auf eine entzündliche Reaktion hindeutet. In den letzten Jahren wurden große Fortschritte in der Erforschung von ALS sowie ähnlichen Krankheiten, wie der frontotemporalen Lobärdegeneration (FTLD) gemacht, die ähnliche Symptome wie ALS aufweist. Mit der vorliegenden Studie soll die Methodik für ein induziertes Mausmodell der ALS etabliert werden, das eine langsamer fortschreitende Pathologie aufweist als bereits etablierte transgene Tiermodelle. Nachdem die Methodik erfolgreich etabliert wurde, sollen in einem Folgeprojekt mehr Tiere entsprechend behandelt und auf ihre Pathologie untersucht werden. Dieses Folgeprojekt würde in einem weiteren Tierversuchsantrag beantragt werden, da durch die vorliegende Studie erst alle Parameter festgelegt werden sollen.

Durch diese Studie soll eine neue Methode zur Injektion von Viren in Mäuse und letztendlich ein neues Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) Mausmodell etabliert werden. In einem ersten Projekt sollen 1-3 Monate alte Mäuse mit einem Farbstoff in den dorsalen Funikulus injiziert und analysiert werden, ob der Farbstoff retrograd in den Motorkortex gelangen kann. Wenn dies erfolgreich durchgeführt wurde, sollen C57Bl/6 Mäuse mit TDP43 exprimierenden Adeno-assoziiert-viralen Partikeln in den dorsalen (posterioren) Funikulus injiziert werden und nach 4, 8 und 12 Wochen die Pathologie der Tiere mittels biochemischer und histologischer Methoden analysiert werden. Durch diese Methode soll es möglich sein, TDP43 im Rückenmark, als auch im Motorkortex zu exprimieren und somit die Pathologie von ALS zu simulieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 10 nicht transgene Mäuse verwendet, die durch die Heterozygotzucht von transgenen Tieren für andere Projekte geboren wurden, jedoch nicht für diese benötigt werden. Es sollen Tiere beider Geschlechter im Alter von 1-3 Monaten verwendet werden.

Weiters werden insgesamt 66 männliche C57Bl/6 Mäuse verwendet. Die Tiere werden von einem Züchter bestellt und im Alter von 1-2 Monaten verwendet.

Insgesamt werden für dieses Projekt 76 Wildtyp Mäuse beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um Medikamente gegen die Amyotrophe Lateralsklerose zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen, daher ist es unerlässlich passende Tiermodelle zu etablieren und ihre Pathologien zu untersuchen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Leberresektion ist die einzige therapeutische Option für viele Patienten mit primären oder sekundären Leberkrebs. Die Leber hat eine einzigartige Fähigkeit den Verlust von Gewebe durch Regeneration zu kompensieren. Doch unterhalb eines bestimmten Grenzwertes kann die nach der Resektion übriggebliebene Leber nicht richtig regenerieren. Dies führt zu einem vorübergehenden und manchmal fatalen Leberversagen mit Enzephalopathie, Hyperbilirubinämie und Koagulopathie, auch bekannt als Small-for-Size Syndrom (SFSS). Zur Zeit gibt es keine wirksame Therapie um SFSS zu behandeln.

Es wird angenommen, dass lange nicht-kodierende RNAs (lncRNAs) die größte Transkriptklasse im Transkriptom von Mäusen und Menschen ist. In einigen Fällen wurde gezeigt, dass lncRNAs wichtige biologische und zelluläre Prozesse wie zum Beispiel Leberregeneration und Zellproliferation regulieren können. Da lncRNAs eine hohe Gewebs- und Kontextspezifität haben, gelten lncRNAs als vielversprechende Ziele für neue Therapieansätze. Dennoch ist die biologische Funktion der meisten lncRNAs noch nicht bekannt. Unser Ziel ist es die Rolle von bestimmten lncRNAs in der Leberregeneration unter normalen und pathologischen Bedingungen zu charakterisieren.

Zu diesem Zweck werden bestimmte lncRNAs in der Leber von Wildtypmäusen blockiert oder überexprimiert um deren Rolle während der Leberregeneration nach partieller oder erweiterter Leberresektion zu untersuchen. Auf diese Weise soll untersucht werden ob sich die Modifizierung bestimmter lncRNAs positiv auf die Leberregeneration auswirkt und ob diese lncRNAs Ziele zukünftiger Therapieansätze sein können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Transgene Tiere (Mäuse): 32

Nicht transgene Tiere (Mäuse): 1664

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

- Vermeidung: Da die Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Leberzellen wie Hepatozyten, Entzündungszellen (und den von ihnen sezernierten Zytokinen und Chemokinen), Gallengangs epithelzellen (Cholangiozyten) und hepatischen Sternzellen (als zelluläre Quelle der Fibrose/Bindegewebsbildung in der Leber), sowie das Zusammenspiel mit extra hepatischem Gewebe (hämatopoetische Zellen) in der Leberregeneration eine essentielle Rolle spielen sind Tierversuche unumgänglich. Wir werden jedoch -um die Anzahl der Versuchstiere beziehungsweise der Tierexperimente so gering wie möglich zu halten -in vitro Versuche in kommerziell erhältlichen Zelllinien durchführen. In diesen Zelllinien wird das "Genes of Interest" mit viralen Vektoren überexprimiert oder durch die sogenannte "knock down" Methode verringert. Soweit möglich werden wir auch Cokulturen der unterschiedlichen (oben angeführten) Zellarten verwenden um den direkten mechanistischen Zusammenhang dieser verschiedenen Zelltypen untereinander feststellen zu können. Diese in vitro Modelle erlauben uns die Beantwortung spezifischer mechanistischer Fragestellungen und tragen maßgeblich zur Einschränkung notwendiger Tierexperimente bei.

- Verminderung: Ein weiterer Punkt für eine Verminderung der Versuchstiere ist die serielle Durchführung der geplanten Experimente. Pilotstudien mit der durch Fallzahlberechnungen erarbeiteten minimal möglichen Anzahl an Tieren werden durchgeführt. Um Streuung innerhalb der Versuchstiergruppen (und somit auch die Tieranzahl) so gering wie möglich zu halten werden auch Charakteristika wie Geschlecht, Körpergewicht und Alter der Mäuse für die Gruppenbildung berücksichtigt.

- Verfeinerung: Alle angeführten experimentellen Techniken sind in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt, damit das bestmögliche Wohlbefinden für die Versuchstiere gewährleistet werden kann.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2020 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Grundlagenforschung nutzt die Maus als Modellorganismus, da die Gene zwischen Mensch und Maus sehr konserviert sind bzw. die gleiche Funktion im Körper ausüben. Es werden sogenannte "Transgene Tiere" verwendet, das sind Tiere deren Erbgut gezielt verändert wurde und diese Veränderung stabil an ihre Nachkommen weitergibt. Es können ein oder mehrere zusätzliche Gene eingefügt werden, welche in ihrer Funktion auch noch oft verstärkt werden, sowie man auch Gene in ihrer Wirkung verändern oder gar inaktivieren kann. Die Charakterisierung dieser Mausmodelle liefert einen sehr wichtigen Beitrag zur Erforschung molekularer Veränderungen, die die Entstehung humaner Erkrankungen verursachen oder begünstigen. Solche transgene Tiere sind wertvolles Gut und werden unter speziellen hygienisch standardisierten Bedingungen gezüchtet und gehalten. Außerdem werden die Mäuse einem regelmäßigem Gesundheitsüberwachungsprogramm unterzogen, in dem auf das Vorkommen bestimmter krankmachender Keime untersucht wird. Nur gesunde Mäuse liefern eindeutige, reproduzierbare und sichere Forschungserkenntnisse. So ist bekannt, dass z.B. tierische Verhaltensweisen, Wachstumsraten, Organgewichte, Immunreaktion oder andere physiologische Vorgänge durch (subakute oder chronische) Erkrankungen gestört sein können und somit falsche Forschungsergebnisse liefern, die nicht mehr mit anderen verglichen werden können. Deshalb ist es wichtig, die Mäuse regelmäßig einem Gesundheitscheck zu unterziehen und standardisiert zu halten. Nur dann ist es möglich, eine gesunde Population zu erhalten und Forschungsergebnisse international vergleichbar zu machen.

Um sich bei der Weitergabe von Tieren, die Gesundheit der eigenen Population zu erhalten, bedient man sich der Methodik des Embryonaltransfers. Weiteres können Tiere aus externen Haltungen, die nicht dem eigenen Hygienestandard entsprechen durch Embryonaltransfer "saniert" werden. Unsere Einrichtung möchte mittels des Embryonaltransfers die eigene, gesunde Mauspopulation schützen und neu erworbene Mauslinien dem eigenen Gesundheitsstatus anpassen. Zusätzlich sollen wertvolle Mauslinien, die aktuell nicht untersucht werden, auf Linienrecht gezüchtet werden. Diese Linien können jederzeit wieder vermehrt gezüchtet werden, falls sich aktuelle Fragestellungen ergeben.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Embryonaltransfer bzw. zur Sanierung der Mäuse wird um die Genehmigung von insgesamt 2430 Tieren für 3 Jahre angesucht, davon gelten 900 Mäuse als "gering" und 1530 Mäuse als "mittel" belastet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Wir versuchen mit so wenigen Tieren als möglich auszukommen, jedoch sind in der Regel 3-5 Transfers notwendig um ausreichend Nachkommen für die weitere Zucht der Tiere zu erhalten. Die Zahlen stellen die obere Grenze dar und voraussichtlich werden wir mit weit weniger Tieren auskommen. Es wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet und versucht, den Stress der Tiere so gering als möglich zu halten. Außerdem werden kurze Narkosezeiten und minimal invasive Operationstechniken verwendet. Eine entsprechende Analgesie und postoperative Nachversorgung der Tiere wird gewährleistet. Bedauerlicherweise lässt sich die Sanierung von Mauslinien nur am lebenden Tier durchführen. Bis jetzt sind keine Ersatzmethoden möglich. Für die Erhaltungszucht wird um insgesamt 5280 Tiere für 3 Jahre angesucht wobei ca. 4380 Tiere durch die Notwendigkeit der Schwanzspitzenbiopsie (Kappen von ca. 2mm der Schwanzspitze im Alter von 7-8 Wochen) als "leicht" belastet gelten. Die Schwanzspitzenbiopsie mit nachfolgender Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist die gängigste und sicherste Methode für die eindeutige Zuordnung des Genotyps. Eine alternative Methode zur Gewinnung von Proben wäre die Ohrstanze, die als "nicht belastend" gilt. Es sei jedoch in Frage gestellt, ob dies nicht zu einer ähnlichen Belastung bzw. Stress führt. Sollten sich andere sichere Methode zur Genotypisierung etablieren würde auf diese Methode

gewechselt werden. Die Genotypisierung aus Haarmaterial hat sich für uns als nicht geeignet dargestellt, da eine Vielzahl etablierter PCR Protokolle nicht funktionierten und die Kreuzkontamination von Haaren aus anderen Linien ein hohes Risiko darstellt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Zelltherapie stellt in der modernen Medizin eine neue Möglichkeit der Behandlung von degenerativen Erkrankungen dar. Eine wichtige Voraussetzung ist jedoch, dass die Zellen nach der Implantation am Ort der Applikation verbleiben und auch dort überleben können. Ziel des Tierversuches ist es, das Verhalten (Überleben, Migration) von implantierten Muskelzellen (Myoblasten) zu beobachten. Folgende Fragen sollen dabei im Fokus stehen: Welchen Einfluss hat die Zellmenge und das Flüssigkeitsvolumen auf das Überleben im Muskelgewebe? Welchen Einfluss hat Training auf das Überleben der applizierten Zellen? Ist eine wiederholte Injektion besser als eine Einmalinjektion? Die daraus erzielten Erkenntnisse sollen anschließend in klinischen Studien am Mensch umgesetzt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

95 Mäuse NOD SCID

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um die Anzahl der Tierexperimente bestmöglich zu vermeiden, wurden im Vorfeld möglichst viele *in vitro* Versuche in der Zellkultur durchgeführt, die Verwendung von Tierexperimenten ist für die oben beschriebene Fragestellung jedoch unumgänglich. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, so dass noch statistische Signifikanz mit der erwarteten Effektgröße erreicht wird. Zusätzlich werden die Tiere über den gesamten Versuchsverlauf sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden) und gegebenenfalls Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind sehr bemüht, Stress und Schmerzen zu vermeiden. Durch die Aufteilung der Versuche in 3 Serien wird sichergestellt, dass nur bei einem erfolgreichen Abschluss einer Serie weitere Tiere verwendet werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel des Projektes ist es, die Reproduzierbarkeit einer diagnostischen Methode zur Erkennung der subklinischen Endometritis zu evaluieren. Dabei wird die Cytobrush-Technik, wie in der Literatur beschrieben, verwendet und Abstriche aus der Gebärmutter von gesunden Kühen entnommen. In der Beurteilung der Abstriche wird der Anteil an Entzündungszellen (polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten; PMN) bestimmt. Die beschriebene Lokalisation der Abstrichstelle ist in den verschiedenen Studien nicht einheitlich. In der geplanten Studie soll getestet werden, ob es durch unterschiedliche Entnahmestellen zu einer Streuung in den Ergebnissen kommt. In Folge könnte der festgestellte Anteil an PMN und somit die Diagnose einer subklinischen Endometritis beeinflusst werden. In der Studie wird angenommen, dass ein wiederholter Abstrich von einer definierten Stelle des Endometrium eine hohe Reproduzierbarkeit des Ergebnisses zeigt. Für die Probenentnahmen wird ein steriler Metallkatheter durch den Gebärmutterhals in das Lumen der Gebärmutter eingeführt. Danach werden nacheinander fünf sterile Cytobrush, die auf einem Metallstab montiert sind und durch eine sterile Plastikhülle geschützt sind, durch den Katheter an die verschiedenen Lokalisationsstellen der Uteruswand geführt. Durch eine halbe Umdrehung des Bürstchens entlang der Gebärmutterwand wird Zellmaterial gewonnen. Das Zellmaterial wird auf sterile Objektträger ausgestrichen und in einem Labor mikroskopisch analysiert. Ein Anteil von mehr als 5% PMN zur Zahl der Endometriumzellen ist diagnostisch für eine subklinische Endometritis. Nach erfolgter Probenentnahme werden die Studientiere wieder in die Herde verbracht. Durch die wiederholte Probenentnahme können wertvolle Hinweise für die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Cytobrush-Methode zur Diagnose der subklinischen Endometritis gewonnen werden. Zur Minimierung von möglichen Schmerzen bei der Einführung des Katheters (analog zur künstlichen Besamung) wird ein Katheter verwendet, durch den mittels Cytobrush mehrfach hintereinander Proben genommen werden können, ohne dass erneut ein Katheter geschoben werden müsste. Somit ist mit einer Entnahme aller benötigten Proben innerhalb weniger Minuten pro Tier zu rechnen. Dies verkürzt zusätzlich die Dauer der Fixierung der Tiere. Nach den Probenentnahmen werden die Kühe wieder in die Herde entlassen. Die Tiere müssen nicht zusätzlich leiden und müssen keine unnötigen Schmerzen ertragen. Nach der Prozedur sind keinerlei Schäden am Tier zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt sollen 100 gesunde Milchkühe ohne Vorbericht einer Schweregeburt oder eines Kaiserschnittes einbezogen werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Durchführung erfolgt während der normalen Betriebsabläufe, wobei die Tiere durch die gewohnten Selbstfanggitter fixiert werden. Die Methode der Cytobrush-Technik zur Gewinnung von Zellmaterial aus der Gebärmutter ist eine validierte Methode, die nach derzeitigem Wissensstand der "Good Clinical Practice" (GCP) durchgeführt wird. Studien konnten darstellen, dass die Kühe keine nachhaltigen negativen Folgen durch diese Prozedur erleiden müssen. Die Entnahme der Proben erfolgt durch geschulte Tierärztinnen und Tierärzte.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In den letzten Jahren sind bei Hühnern verschiedene neuartige Krankheitsbilder aufgetreten, die durch unterschiedliche Viren hervorgerufen werden. Hintergrund dieser Krankheitsbilder sind oftmals neue Virusstämme gegen die es keine entsprechende Prophylaxe gibt. Zusätzlich ist oftmals der Nachweis - er wird beim Geflügel vorrangig mittels serologischer Verfahren durchgeführt - nicht oder nur unzureichend möglich. Um neue Testsysteme zu etablieren, ist es notwendig definierte Seren herzustellen, um Spezifität und Sensitivität zu testen. Solche Seren sind käuflich nicht zu erwerben und müssen deshalb in Tieren produziert werden. Aus diesem Grund kann der Tierversuch durch Alternativmethoden nicht ersetzt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Versuch werden insgesamt 80 spezifiziert pathogen-freie Hühner verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Das oberste Ziel ist es jedoch, das Leiden der Tiere auf ein Minimalmaß zu beschränken. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen sowie klinische Untersuchungen überprüfen den Gesundheitsstatus der Tiere.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Transplantation vaskularisierter Organe wie z.B. dem Herzen ist für viele Patienten die letzte Überlebenschance. Durch die Verwendung von Immunsuppressiva kann zwar die akute Abstoßung des Transplantates verhindert werden, allerdings stellt chronische Abstoßung, geäußert durch Transplant-Vaskulopathie, nach wie vor die Haupttodesursache nach Herztransplantationen dar. Vorarbeiten identifizierten das entzündungshemmende Protein A20 als wirksamen Schutz gegen Transplant-Vaskulopathie, und *in vitro* Daten zeigen, dass A20 neben Aktivierung von NF-κB auch die Interferon gamma Signaltransduktion blockiert. Allerdings können *in vitro*-Studien die Komplexität des Immunsystems oder der physiologischen Prozesse die während der Entstehung von Transplantat-Vaskulopathie ablaufen, nicht ausreichend wiedergeben, und müssen durch *in vivo*-Experimente in Säugetieren, wie z.B. Mäusen, ergänzt werden. In einem Modell für Transplantat-Vaskulopathie wollen wir daher studieren, wie A20 den Interferon Signalweg *in vivo* beeinflusst, und welche Einflüsse das auf das Potential von A20 hat, vor Transplant Vaskulopathie zu schützen. In diesem Modell wird die Aorta einer Spendermaus in die Halsschlagader einer Empfängermaus transplantiert, und verschiedenen genetische Konstellationen ermöglichen es uns, die Wirkung von A20 auf Transplantat Vaskulopathie genau zu studieren. Die Empfängermaus muss in dem Versuchszeitraum einer Belastung mittleren Schweregrades unterzogen werden, während bei der Spendermaus die Lebensfunktion nicht wieder hergestellt werden kann. Zusammenfassendes Ziel der Studie ist es, das therapeutische Potential von A20 zu manifestieren und klinische Anwendung vorstellbar zu machen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Nachdem es sich bei Transplantat-Arteriosklerose um eine Krankheit handelt, in deren Entstehung das gesamte Immunsystem involviert ist, müssen wir, um effektive therapeutische Therapien zu erforschen, auf *in vivo* Modelle zurückgreifen. Basierend auf Erfahrungswerte und statistischer Erhebung beantragen wir die Verwendung von 712 Mäusen, davon sind 356 als Transplantat-Empfänger vorgesehen, welche einer Belastung mittleren Schweregrades ausgesetzt werden. Bei den beantragten Mäusen handelt es sich um 216 Balb/C Mäuse, und 496 Mäuse mit dem Background C57B1/6, sowohl Wildtyp als auch mit diversen genetischen Modifikationen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

In vitro-Modelle mit primären Endothel- und glatten Muskelzellen lieferten uns wichtige Vorkenntnisse. Allerdings können *in vitro*-Studien die Komplexität des Immunsystems oder der physiologischen Prozesse die während der Entstehung von Transplantat Vaskulopathie ablaufen, nicht ausreichend wiedergeben, und müssen durch *in vivo*-Experimente ergänzt werden. Das gewählte Modell ist eines der am besten reproduzierbare Maus-Modelle für TAV. Andere Modelle benötigen deutlich invasivere Verfahren, wie z.B. bei dem "Aorta zu Aorta Modell", welches End-zu-Seit Anastomose erfordert. Wir werden nur Personal einsetzen, welches ausreichend Erfahrung mit den geplanten chirurgischen Eingriffen hat. Unser Versuchsdesign zielt darauf ab, die Gesamtzahl der benötigten Mäuse für unsere Experimente zu minimieren. Weiters werden die Versuchsmäuse artengerecht gehalten, der Krankheitsverlauf beobachtet und ein Versuch gegebenenfalls vorzeitig beendet, falls die definierten Abbruchskriterien eintreffen. Die Tiere erhalten post-OP eine entsprechende, gewichtsadaptierte Analgosedierung.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad „mittel“ zuzuordnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die zu untersuchenden Tiere sind 583 Ratten.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose, Analgesie und Antibiose und durch die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und der täglichen tierpflegerischen Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere verhindert werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Techniken Vasektomie, Embryotransfer und Kryokonservierung, die in diesem Projektantrag beschrieben werden, sind seit Jahrzehnten etabliert und gehören zum technischen Standardrepertoire jeder großen Zuchteinrichtung für Labornager. Der Embryotransfer ermöglicht die hygienische Sanierung von Mauskolonien, die mit unerwünschten mauspathogenen Erregern infiziert sind und damit die Auswertung von wissenschaftlichen Experimenten unvorhersehbar beeinflussen können.

Der Transfer erfolgt mit Embryonen im Zweizellstadium und kann durchgeführt werden indem man die Embryonen von Spendermüttern entnimmt -wobei diese vorher human getötet werden –und direkt (operativ) in nicht infizierte Ammenmütter transferiert. Alternativ können Embryonen entnommen und in flüssigem Stickstoff tiefgefroren werden um zu jedem benötigten Zeitpunkt aufgetaut und in Ammenmütter transferiert zu werden. In beiden Fällen wird die Ammenmutter auf physiologischem Wege Jungtiere zur Welt bringen, die nicht mit dem Erreger belastet sind, mit dem die Muttertiere infiziert sind. Für die hormonelle Stimulation der Ammenmütter werden -mittels Vasektomie (dauerhafte Durchtrennung der Samenleiter) sterilisierte Mäuseböcke benötigt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden ausschließlich Mäuse (*Mus musculus*) verwendet. Wir planen 4080 Tiere über einen Zeitraum von 5 Jahren einzusetzen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Wenn die Methoden etabliert sind, können Mauslinien, deren genetisches Potential zwar von Bedeutung ist, die aber gerade nicht benötigt werden, weggefroren werden. Das hat zur Folge, dass keine Tiere unnötig gezüchtet, gehalten und weggegeben werden müssen. Des Weiteren können im Austausch mit anderen Forschungsinstitutionen anstatt lebender Tiere z.B. Embryonen einer Linie verschickt werden. Die Methoden helfen, einen hygienisch einwandfreien Gesundheitsstatus der gesamten Zuchtkolonie dauerhaft zu ermöglichen. Es handelt sich um Techniken die bereits seit Jahrzehnten sehr gut etabliert, in vielen wissenschaftlichen Einrichtungen routinemäßig angewandt und daher ständig verfeinert wurden und werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Lipocaline spielen eine große Rolle bei der Immunmodulation, beim Eisentransport und zellulärem Überleben und sind daher bedeutend für den Ischämie/Reperfusionsschaden sowie akute Abstoßung bei der Organtransplantation. Ihr molekularer Wirkungsmechanismus im Hinblick auf mögliche Effekte auf intrazelluläre Signalwege im Rahmen dieser Prozesse ist nach wie vor unbekannt. Nachdem wir in Vorarbeiten bereits einen chemotaktischen Effekt von Lipocalin-2 auf infiltrierende neutrophile Granulozyten in einem Mäuseherztransplantationsmodell zeigen konnten, wollen wir nun die Rolle dieses Proteins während der akuten Abstoßung in einem experimentellen Nierentransplantationsmodell untersuchen. Zur weiteren Erforschung der hochkomplexen Mechanismen, die bei der Abstoßung und Transplantatsverlust auftreten, stehen keine in vitro Versuchsmöglichkeiten zur Verfügung, so dass schließlich valide in vivo Abstoßungsmodelle hierfür benötigt werden.

Diese Studien sollen die Basis für eine mögliche therapeutische Anwendung von Lipocalin-2 oder dessen Inhibitor zur Eindämmung des Ischämie/Reperfusionsschadens und zur Früherkennung einer akuten Organabstoßung bilden und dadurch für menschliche Transplantationspatienten eine bessere Behandlungsmethode und eine lange Überlebenszeit des transplantierten Organs ermöglichen. Die Belastung der einzelnen Versuchstiere ist als „mittel“ einzustufen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Bei insgesamt 253 Mäusen (C57BL/6 wildtype, n=76; C57BL/6 Lcn-2 ^{-/-}, n=51; BALB/c, n=126) soll in einem Zeitraum von 2 Jahren der Einfluss einer exogenen Gabe von rekombinantem Lipocalin-2 auf die Organabstoßung nach Nierentransplantation analysiert werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Erfüllung der „3R“ wurde die Gruppengröße mit n=6 Transplantationen für eine statistische Aussagekraft ad minimum gehalten wurde. Zusätzliche Versuche, die mit einer Vergrößerung der Gesamtanzahl der Versuchstiere einhergehen würden, wurden vermieden. Eine suffiziente Schmerztherapie während der Versuchsanordnung, ein in unserer Institution etabliertes OP Verfahren sowie ein unverzügliches Euthanasieren der Versuchstiere nach Organentnahme tragen zur Verfeinerung des Tierversuchs bei.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Hauptmerkmal des grünen Stars ist der Untergang und Verlust der Ganglienzellen in der Netzhaut. Die Pathogenese des Zelluntergangs ist noch nicht ausreichend geklärt, allerdings spielt ein erhöhter Augeninnendruck eine entscheidende Rolle, weshalb die Therapie in der Senkung des Augeninnendrucks besteht. Falls dies durch Tropftherapie nicht mehr gelingt, müssen operative Maßnahmen eingeleitet werden. In Pilotstudien wurde vom Projektleiter in einem kleineren Versuch festgestellt, dass es in der Netzhaut selber schützende Mechanismen gibt, die den Untergang der Ganglienzellen verhindern. Dies sollte jetzt in einem wesentlich größeren und aufwendigeren Versuch verifiziert werden. Sollte dabei im Versuch festgestellt werden, dass es tatsächlich schützende Mechanismen in der Netzhaut gibt, dann hätte dies eine weitreichende Bedeutung in der Therapie des grünen Stars. Es müsste demnach das Bestreben bestehen, Tropfen zu entwickeln, die diese schützenden Mechanismen aufrechterhalten bzw. sogar steigern. Dies stellt einen komplett neuen Ansatz in der Therapie des grünen Stars dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

240 Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Es erfolgt eine Gruppenhaltung der Tiere, und zwar 4-5 Tiere pro Käfig und die Eingriffe werden nach humanmedizinischen Standards durchgeführt. Insgesamt werden 240 Mäuse benötigt und nachdem methodisch alles für den Versuch etabliert ist kann mit einem positiven Abschluss des Projekts gerechnet werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, können bei Mensch und Tier toxische Effekte ausüben. Zearalenon (ZEN), eines der bedeutendsten Mykotoxine, kann in Schweinen sowohl Reproduktions-, als auch Fertilitätsstörungen verursachen. ZEN ist nämlich imstande eine östrogene Wirkung zu entfalten, welche sich klinisch als Hyperöstrogenismus äußert. Aus diesem Grund hat die Europäische Kommission Richtwerte bezüglich der Höchstmengen an ZEN in Lebensmitteln eingeführt (Europäische Union, 2006). Die EFSA (European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain, 2011) hat ein NOEL (no-observed-effect-level) von 10 µg/kg Körpergewicht pro Tag für Schweine veröffentlicht. Für ZEN-Metabolite und Konjugate gibt es noch keine EU-Höchstmengenregelungen. Ziel dieses Projekts ist es, erstmals eine in vivo Studie an Schweinen zur Abklärung von Absorption, Distribution, Metabolismus und Exkretion (ADME) des Mykotoxins ZEN und seine Metabolite durchzuführen. Zu diesem Zweck wird Ferkeln ZEN und seine Metabolite oral verabreicht (einzelne Boli) und anschließend der Kot und Urin der Tiere für 48 Stunden gesammelt. In den Kot- und Urinproben werden die Konzentrationen an ZEN sowie der Metabolite bestimmt. Das Vorhandensein von charakteristischen Metaboliten in den Exkreten wird Aufschluss darüber geben, ob und wo die ZEN-Metabolite im Schwein hydrolysiert werden. Insgesamt werden die Resultate dieser Studie einen wichtigen Beitrag zur Risikoabschätzung von ZEN-Metaboliten leisten. Die orale Applikation (per Gavage, mit Maulholz) von ZEN und seinen Metaboliten wird von der betreuenden Tierärztin durchgeführt. Um eine vollständige Aufnahme zu gewährleisten, wird die Substanz mittels eines in den Ösophagus platzierten Tubus (steriler Absaugkatheter) appliziert. Der Tubus wird nach der Verabreichung mit 10 mL Trinkwasser gespült. Insgesamt ist durch die orogastrale Verabreichung von ZEN und seinen Metaboliten und die damit einhergehende Fixation der Tiere ein Schweregrad „gering“ zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden vier männlich kastrierte Absetzferkel pro Gruppe (insgesamt drei Gruppen somit insgesamt 12 Tiere) für den Versuch verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

- Replacement: Da die Abklärung von Absorption, Distribution, Metabolismus und Exkretion (ADME) des Mykotoxins ZEN und seinen Metaboliten nur in einer in vivo Studie erfolgen kann, ist es nicht möglich auf eine Ersatz-, bzw. Ergänzungsmethode (in vitro, etc.) auszuweichen.
- Reduction: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (vier Absetzferkel pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Um die Tierzahl zu reduzieren (z.B. im Vergleich zu einem Parallelgruppensdesign), wurde für diesen Versuch ein Messwiederholungsdesign gewählt. Die Verminderung der Fehlervarianz hinsichtlich der interindividuellen Unterschiede stellt einen weiteren Vorteil dieses Versuchsaufbaus dar.
- Refinement: Die Versuchsdauer (22 Tage) wurde so gewählt, dass die Ferkel nur so kurz wie möglich unter Stress stehen. Um eine genaue Trennung der Kot- und Urinmengen zu gewährleisten, kommen sie einzeln in Stoffwechselkäfige (insgesamt 12 Stück, die nebeneinander aufgestellt werden, damit sich die Tiere hören, riechen und sehen können). Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel des beantragten Tierversuchs ist die Anwendung einer lichtbasierten Technik zur Bildgebung im alternden Mauseye. Ähnlich einem Mikroskop oder Fotoapparat ermöglicht diese Technik die dreidimensionale Darstellung von Gewebsstrukturen. Dabei können Strukturen bis zu einer Größe von weniger als einem Hundertstel Millimeter unterschieden werden. Damit können nicht nur winzige pathologischen Veränderungen der Struktur diagnostiziert werden, sondern auch die optischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes vermessen werden. Außerdem können ähnlich dem Ultraschallprinzip Gefäßstrukturen bis ins Kapillarlevel visualisiert und auch der Blutfluss quantitativ erfasst werden. Da die Messung mit Licht durchgeführt wird, ist sie berührungslos, kontaktfrei, schnell und schmerzlos. Dadurch ermöglicht sie wiederholte Messungen in ein und demselben Tier und erfüllt damit das Prinzip der 3R, der Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung von Tierversuchen. In den beantragten Experimenten soll das diagnostische Potential von optischen Techniken mit zusätzlichem Bildkontrasts mittels longitudinaler Studien in relevanten Mausmodellen für altersbezogene Erkrankungen demonstriert und untersucht werden. Durch wiederholte Messungen an ein und demselben Auge werden Läsionen im Auge, die sich mit fortschreitendem Alter entwickeln, dreidimensional erfasst und verfolgt. Der Tierversuch am Mauseye ermöglicht dabei eine Beobachtung dieser Läsionen im Zeitraffer. Durch die Kombination von struktureller Information (wie sehen die Läsionen aus und wie entwickeln sie sich?) und funktioneller Information (wie verändern sich optische Gewebeeigenschaften, wie Gefäße und Blutfluss?) wollen wir nicht nur eine neue diagnostische Technik erproben, sondern auch wertvolle Einsichten in die Entwicklung von wichtigen Erkrankungen gewinnen.

2. Art und Anzahl der Tiere

60 männliche und 60 weibliche Mäuse unterschiedlichen Genotyps

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Tierhaltung und Methodik erfolgen standardisiert, um die Streuung der Ergebnisse zu minimieren. Die Tierzahlen wurden auf ein notwendiges Minimum reduziert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Zweck der beantragten Versuche ist es, die Grundlage für neue therapeutische Strategien zur Behandlung von Angst-und Suchterkrankungen zu schaffen. Diese Erkrankungen sind ein massives gesundheitspolitisches Problem und betreffen weit mehr Menschen als zB Depressionen usw. Was uns zur gezielten Behandlung derzeit noch fehlt, ist ein genaues Verständnis der beteiligten Hirnregionen und derer funktioneller Zusammenhänge. Um dies abzuklären, sollen als angstauslösend und suchtfördernde bekannt Botenstoffe in genau definierten Hirnregionen ausgeschaltet werden. Dies erfolgt durch die Injektion minimaler Mengen $<1\mu\text{l}$ viraler Vektoren. Diese Injektion erfolgt unter Narkose, durch die Wunde werden die Tiere trotz Schmerzbehandlung für wenige Tage belastet. Die Forschung ist notwendig, um schwere Angsterkrankungen gezielt behandeln zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 216 Mäuse in insgesamt 3 Jahren untersucht.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da es sich bei Angst und Sucht um sehr komplexe Verhalten handelt, können diese Experimente nur an lebenden Tieren durchgeführt werden. Durch den Einsatz statistischer Poweranalyse wurde die Anzahl der Versuchstiere auf ein absolutes Minimum reduziert. Für die Untersuchungen wurden schmerzfreie und stressarme Tests ausgewählt, es wird lediglich die Erkundungsbereitschaft neuer Umgebungen getestet. Für die Ausschaltung der Botenstoffe werden Materialien hoher Reinheit verwendet, um die Effekte so genau wie möglich und mit möglichst geringen Nebeneffekte für die Tiere untersuchen zu können. Durch die Narkose und Schmerzbehandlung wird die Belastung der Tiere so gering wie möglich gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Der Zweck des Tierversuches ist die Verbesserung der derzeit klinisch verwendeten Glucocorticoid-Therapie von Hörminderungen. Die Projektziele und der zu erwartende Nutzen definieren sich primär über eine zukünftige alternative Applikationsmöglichkeit in der Therapie und Prävention von Innenohrschäden durch die Erprobung von intratympanalen Glucocorticoid-Hydrogelen als Alternative zu den derzeit oft eingesetzten und mit Nebenwirkungen einhergehenden systemischen Gaben von Cortison.

Die Verwendung von neuartigen Hydrogelen als lokal wirksame Drug-Release-Systeme, ermöglicht eine langfristige Therapie ohne systemische Nebenwirkungen, wurde bisher noch nicht für die Therapie des Lärmschadens evaluiert und könnte die Therapie dieser Krankheitsbilder optimieren. Der zu erwartende Schaden für die Tiere ist ein Hörschaden durch das Lärmtrauma.

2. Art und Anzahl der Tiere

48 pigmentierte männliche und weibliche Meerschweinchen

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten ist die angegebene Anzahl an Tieren nötig, wobei die Invasivität bereits auf ein Minimum reduziert wurde und der Einsatz eines etablierten Modells zur internationalen Vergleichbarkeit beiträgt. Die verwendete Gruppengröße wurde aufgrund einer Fallzahlplanung berechnet. Durch Standardisierung aller Versuchsbedingungen wird die Streuung der Versuchsergebnisse vermindert und somit die Tierzahl zusätzlich auf das notwendige Minimum gesenkt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist das Erlernen des klinischen Untersuchungsganges sowie praktischer Handgriffe und Tätigkeiten am Tier. Dies dient der Vorbereitung für den Praxisalltag und dem Erwerb praktischer Kenntnisse für die zukünftige Berufsausübung im Wiederkäuerbereich. Dadurch, dass die Manipulationen der klinischen Untersuchung wenig oder nicht invasiv sind, sind Schäden für die Tiere mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit auszuschließen.

2. Art und Anzahl der Tiere

In das Projekt werden 20 Rinder, 50 Schafe, 20 Ziegen und 10 Neuweltkameliden einbezogen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Anleitung zur Durchführung der Untersuchungsgänge und der praktischen Handgriffe werden nur unter Aufsicht eines erfahrenen Tierarztes durchgeführt, sodass dieser die getätigten Maßnahmen zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen kann. Alle Maßnahmen werden nach derzeitigem Wissensstand als „good clinical practice“ durchgeführt sodass den Tieren unnötige Schmerzen und Leiden erspart bleiben. Die Belastung der Tiere wird als gering eingestuft. Durch die große Anzahl an Tieren kann eine Mehrfachbelastung von Tiere vermieden bzw. minimiert werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Veränderungen in unserem Lebensstil sind Ursache einer besorgniserregenden Zunahme des Typ 2 Diabetes („Zuckerkrankheit“ = erhöhte Glukosekonzentration im Blut). Vor diesem Hintergrund besteht die dringende Notwendigkeit, Strategien zur Prävention und Behandlung dieser Stoffwechselstörung zu entwickeln. Das vorliegende Projekt beschäftigt sich mit aktuellen Fragestellungen zu diesem Themenkomplex und untersucht die Wirkung diverser Interventionen auf den Glukosestoffwechsel von Mäusen und Ratten. Das Projekt besteht aus drei Teilen: *Teil 1* untersucht, wie neu entwickelte Appetithemmer (sogenannte MCH1-Antagonisten) auf den Glukosestoffwechsel wirken. Die erwarteten Ergebnisse sind für die weitere Entwicklung und für die Einschätzung der zukünftigen Brauchbarkeit solcher Mittel entscheidend. Diese Experimente haben unter anderem das Potenzial, unbrauchbare Substanzen mit nachteiligen Eigenschaften zu identifizieren und so zur Reduktion bzw. Vermeidung tierverbrauchender Entwicklungsprogramme beizutragen. *Teil 2* vergleicht die Wirkung von reduziertem Sauerstoff in der Atemluft mit jener des derzeit meistverwendeten Medikaments für Typ 2 Diabetes (Metformin). Dies ist unter anderem für das Verständnis der Wirkungsweise von Metformin wichtig, weil Metformin eine hemmende Wirkung auf die Zellatmung haben dürfte. Die Informationen könnten zur zukünftigen Entwicklung optimierter Behandlungsstrategien wesentlich beitragen. *Teil 3* beinhaltet die erstmalige Untersuchung der antidiabetischen Wirksamkeit von Substanzen, die aus einem Naturheilmittel entwickelt wurden und als neue Diabetesmedikamente in Frage kommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die geplanten Untersuchungen werden insgesamt maximal 274 Mäuse und 555 Ratten benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Versuche am intakten Organismus werden im Sinne des Replacement (Vermeidung von Tierversuchen) durch in Vitro-Untersuchungen ergänzt. Sie können aber nicht gänzlich durch in Vitro-Forschung ersetzt werden, weil es in allen Teilen des Projekts um Wirkungen auf die Blutglukose geht, die im Zusammenspiel vieler, teilweise noch ungeklärter, Mechanismen und Organe reguliert wird. Durch vorausschauende Fallzahlberechnungen, entsprechende Planung der Abläufe, sowie durch standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsprotokolle wird im Sinne der Reduction (Verminderung von Tierversuchen) maximaler Informationsgewinn bei minimaler Tierzahl sichergestellt. So ist beispielsweise die Reihenfolge der Untersuchungen bewusst in einer Weise gestaltet, dass zuerst in Experimenten mit äußerst geringem Belastungsgrad und Tierbedarf Informationen über geeignete Dosierungen und Versuchsbedingungen gesammelt werden. Auf Basis dieser Daten kann der Bedarf an nachfolgenden Versuchen minimiert werden.

Im Sinne des Refinement (Verfeinerung von Tierversuchen) entsprechen die eingesetzten Arten, Stämme und Krankheitsmodelle (= Tiere mit erblichem oder ernährungsbedingtem Übergewicht), sowie das Verwendungsalter der Tiere langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung, sodass auch bei geringem Tierverbrauch bestmögliche Vergleichbarkeit und Interpretationssicherheit in Bezug auf frühere Ergebnisse besteht. Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen sind standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Onkolytische Viren stellen ein neues Behandlungskonzept für die Behandlung von Tumoren dar. Hierbei kann sich das Virus nur in Tumorzellen vermehren, wodurch diese spezifisch abgetötet werden. Gesunde Zellen werden verschont. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die Tumorzellen *in vitro* sehr effizient abgetötet werden. Es ist zu erwarten, dass ein Teil der Tiere leichte Grippe-ähnliche Symptome entwickelt. Durch dieses Projekt wird es uns möglich sein, verlässliche Aussagen über die möglichen Gefahren bei einer Anwendung im menschlichen Patienten treffen. Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns wichtige Informationen für die Weiterentwicklung unseres neuen Therapiekonzepts zur klinischen Anwendung hin geben.

2. Art und Anzahl der Tiere

In dem geplanten Experiment werden insgesamt maximal **12 Kaninchen** in einem Zeitraum von **2 Jahren** verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt. Parallel zu den Tierexperimenten werden weitere Zellkulturexperimente durchgeführt, um die Tierzahlen so gering wie möglich zu halten. Alle Experimente sind so geplant, dass die Belastung für die Tiere möglichst gering ist. Alle Personen, die die Experimente durchführen sind entsprechend geschult. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Fettleibigkeit, Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen in westlichen Zivilisationen Massenerkrankungen dar. In Westeuropa sind mehr als 50% der Bevölkerung übergewichtig und mit ca. 15 Mio. Todesfällen pro Jahr sterben ungefähr doppelt so viele Menschen weltweit an Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Herzinfarkt und Gehirnschlag als an Krebs. All diesen Erkrankungen liegen unter anderem Fettstoffwechselstörungen zugrunde, die zur massiven Einlagerung von Fetten in Körperzellen und zur Ablagerung von Cholesterin in der Arterienwand führen.

Fette dienen dem Körper nicht nur als Langzeitspeicher von Energie, sie sind auch wichtige Botenstoffe und Signalmoleküle im Körper. Deshalb wird Fett nicht nur im Fettgewebe, sondern zu einem kleinen Teil in fast allen Körperzellen gespeichert. Um gespeichertes Fett zu mobilisieren, besitzt der Körper spezielle fettspaltende Enzyme, sogenannte Lipasen. Jede Lipase ist für einen ganz bestimmten Schritt im Abbau verantwortlich. Der Körper besitzt ein äußerst kompliziertes Steuerungs- und Regelsystem, mit dem er jeden einzelnen Zellprozess sehr fein abstimmen kann.

Zur Untersuchung des Energie- und Fettstoffwechsels werden neben Zellkulturexperimenten auch Modellorganismen herangezogen, wie z.B. Würmer, Insekten oder Fische. Jedoch können diese Modelle häufig nicht direkt mit einem Säugetier verglichen werden. Daher werden in der Forschung nach wie vor Mausmodelle hergestellt und untersucht. Die Maus hat einen komplexen Organismus und der weist Stoffwechselmechanismen auf, welche in allen Säugetieren ident sind. Dadurch können wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, die Ansatzpunkte für die Prävention und Behandlung von Krankheiten bieten. Wir sind an der biologischen Charakterisierung von Enzymen interessiert, die den Abbau von Lipiden in Säugerzellen katalysieren. Diese lipolytischen Enzyme spielen eine wichtige Rolle in vielen biologischen und pathologischen Prozessen, da sie die Verfügbarkeit von Lipiden sowohl für die zelluläre Energieproduktion, als auch für Synthese- und Signaltransduktionsreaktionen kontrollieren. Es existieren zahlreiche genetische Erkrankungen, die einen Defekt im Phospholipid-, Triglyzerid-, oder Cholesterinester-Abbau aufweisen. Darüber hinaus können Veränderungen von lipolytischen Aktivitäten auch die Entstehung von häufig vorkommenden Stoffwechselerkrankungen beeinflussen, wie z.B. Fettleibigkeit, Dyslipidämien, Typ 2 Diabetes, Atherosklerose, und auch Tumor-induzierte Kachexie. Dennoch sind viele Lipasen unzureichend charakterisiert oder unentdeckt. Ziel unserer Forschung ist es neue Lipasen zu identifizieren und deren biologische Funktion mithilfe von biochemischen, zell- und molekularbiologischen Methoden zu erklären. Um die Funktion von einem Enzym in einem komplexen Organismus zu verstehen, sind jedoch Tierversuche unumgänglich.

2. Art und Anzahl der Tiere

Wir haben in diesem Tierversuchsantrag um die Züchtung und Genotypisierung von insgesamt 5.600 Mäusen und vier Kaninchen angesucht, die von vier Arbeitsgruppen verwendet werden.

Aufgrund neuer Erkenntnisse wird um eine Erhöhung der Anzahl der Tiere um **zusätzlich 240 Mäuse** angesucht.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Entsprechend internationalen Standards werden Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Der Tierversuch wird ausschließlich als Proof-of-Principle Experiment gesehen, das eine aus in vitro Experimenten entstandene Hypothese bestätigt oder verwirft. Auch in der Lehre werden nur tierversuchsfreie Verfahren eingesetzt.

Verminderung: Außerdem wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment und liegt im Normalfall zwischen 3 und 10 Tieren.

Verfeinerung: Selbstverständlich versuchen wir Stress und Anzahl der Tiere zu minimieren. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere stark vermindert werden und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden können.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Defizite der Wahrnehmung, des logischen Denkens, der Lernfähigkeit und Gedächtnisleistung sind Zeichen funktionaler Störungen im Zusammenhang verschiedener neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen. Neue Behandlungsansätze zur Normalisierung der Gehirnfunktionen haben hohe Priorität. Ein Ansatzpunkt ist die Aufklärung der Wirkungsmechanismen bekannt wirksamer Substanzen wie Modafinil durch chemische Modifikation. Ratten sind durch ihre hohe Lernfähigkeit bewährte Modelle zum Studium zentralnerval wirksamer Substanzen. In diesem Projekt wird die funktionelle Wirksamkeit neuer Analoga an Ratten mittels des radial arms maze-sowie des water maze-Tests geprüft und die molekularen Vorgänge im Gehirn mittels Proteomics-Technologie untersucht. Wirksame neue Substanzen werden mit anderen Testsystemen (neurologisches screening, open field, elevated plus maze, forced swim maze, multiple T-maze, hole board test) auf weitere Wirkungen bzw. Nebenwirkungen untersucht.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

max. 2.791 Ratten (ursprünglich 1.791; Erhöhung um 1.000 Tiere)

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Zentralnerval wirksame Substanzen und ihr Einfluss auf Lernen und Gedächtnis sind nur am intakten Gesamtorganismus in Lernversuchen überprüfbar. Durch eine hohe Standardisierung der Haltungs- und Versuchsbedingungen und die Nutzung einer bewährten Standardmethode kann die notwendige Gruppengröße zur statistischen Auswertung klein gehalten werden. Durch die hohe Empfindlichkeit der Analysemethoden kann die Substanzdosierung gering gehalten werden.

Durch einen Stufenplan wird die Zahl der effektiv verwendeten Tiere gering gehalten: Ist in der Dosisfindungsphase (Vorversuch mit einer sehr geringen Anzahl von Tieren) ein Analogon nicht mindestens gleich wirksam wie Modafinil, wird es ausgeschieden. In Folge werden nach der Prüfung an einer statistisch relevanten Gruppengröße (Hauptversuch) nur die bestwirksamen Substanzen für weiter führende Experimente eingesetzt. Die mit den Verhaltenstests und der Substanzapplikation verbundene Belastung der Tiere ist minimal.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Dieses Projekt ist eine ergänzende Untersuchung eines bereits bewilligten Projektes, in welchem wir den molekularen Mechanismus von TypII-Diabetes untersuchten. Dieses Projekt war sehr erfolgreich und wir verstehen nun, dass Adipositaszellen ein bestimmtes Molekül besitzen, welches die Entstehung von TypII-Diabetes beeinflusst. TypII-Diabetes ist eine Pandemie, die durch Defekte der Insulinproduktion oder der Insulinaktion oder von beiden verursacht werden. Sie ist eine der größten Herausforderungen der Medizin in diesem Jahrhundert, zum Teil verursacht durch eine Adipositas-Epidemie. Um auf eine auf diesen Erkenntnissen basierende Therapie entwickeln zu können, sind weiterführende Untersuchungen notwendig. Mäuse unterschiedlichen Genotyps werden bis zu 26 Wochen mit fettreicher bzw. Normaldiät gefüttert und die Insulin-bzw. Glucose-Toleranz getestet. Eine Fettzell-Transplantation erfolgt subkutan in Narkose. Am Ende werden die Tiere schmerzfrei getötet und die erforderlichen Laboruntersuchungen durchgeführt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden hierfür sogenannte C57Bl/6 Mäuse verwendet, wobei einem Teil der Tiere ein bestimmtes Molekül, welches die Typ II- Diabetes negativ beeinflusst, fehlt. In Summe werden 224 Tiere für diese Experimente eingeplant. Diese Tiere sind gesund und auch alle genetisch veränderten Mäuse zeigen keinerlei Krankheitszeichen.

zusätzlich: 200 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Unsere Experimente wurden so verfeinert, dass die Tiere so wenig wie möglich leiden: Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel einer Studie war die Verbesserung einer neuartigen intravasalen, chronischen Blutzuckermesstechnik. Mit diesen neuen Messsonden, welche innerhalb eines Blutgefäßes platziert wird, ist es möglich, bei Patienten auf der Intensivstation den Blutzuckerspiegel kontinuierlich zu messen und aufzuzeichnen. So kann auf Änderungen des Blutzuckerspiegels bei Intensivpatienten sofort reagiert werden, was für die Patienten einen entscheidenden Behandlungsvorteil bringt. Bei klinischen Tests der Messsonden an Patienten auf Intensivstationen, welche keine begleitende Infektion hatten, erbrachte die neue Messsonde eine exzellente Datenqualität. Bei Patienten auf Intensivstation, welche gleichzeitig eine Infektion hatten, waren die Messdaten jedoch von schlechter Qualität. Es wurde vermutet, dass bestimmte Proteine, welche im Rahmen eines Entzündungsgeschehens bei Infektionen gebildet werden, sich an der Membran der Messsonde anlegen und die Zuckeranteile der Entzündungsproteine die Messergebnis verfälschen. Um dies zu verhindern wurden neue Sensormodelle mit veränderten Membran- und Messbestandteilen entwickelt. Die bisher an 6 Schweinen erfolgte Testung mit unterschiedlichen Sensoren, deren Membranen auf eine Weise modifiziert wurden, konnten mit Erfolg abgeschlossen werden. Die Störung der Messungen durch Entzündungsprodukte konnte unterbunden werden. Während der Versuche hat sich herausgestellt, dass auch Sensoren, die aus dem Blutgefäß durch Umlagerung der Tiere versehentlich disloziert wurden und im Bindegewebe lagen, weiterhin gute Ergebnisse lieferten. Das eröffnet die Möglichkeiten ohne Gefäßzugang abseits des rund um die Uhr monitierten Intensivpatienten auch bei ansonsten gesunden Diabetespatienten die nötige genaue Überwachung des Blutzuckerspiegels im Tagesverlauf. In 6 weiteren Schweinen sollen nun jeweils 6 subkutane und 2 intravasale Sensoren unterschiedlicher Bauart zu Messungen der Änderungen des Blutzuckerspiegels vergleichend untersucht werden. An vollnarkotisierten Tieren werden Schwankungen der Blutzuckerwerte durch Glukose-Challenge oder Insulingabe über 48 Stunden getestet und mit labormäßig erhobenen Werten verglichen.

2. Art und Anzahl der Tiere

6 Schweine, zusätzlich 6 Schweine

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Studien am Tier werden unter standardisierten Bedingungen und Methoden durchgeführt, um die Streuung der Messergebnisse gering zu halten und somit die notwendige Anzahl der Tiere zu minimieren. Die Tiere werden über 48 Stunden in Vollnarkose gehalten und anschließend durch eine Überdosis ohne Erwachen eingeschläfert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Bronchuskarzinom ist eine der häufigsten Todesursachen in Europa und eine effiziente Therapie im metastasierten Stadium der Erkrankung existiert nicht. Der vorliegende Tierversuch hat daher das Ziel, die Effekte einer Hemmung oder Überexpression von ANGPTL-4, eines im Tumor vorkommenden Faktors, zu untersuchen, um dessen Auswirkungen auf das Tumorstadium und das Metastasierungsverhalten des Bronchuskarzinoms zu untersuchen.

In den Versuchen soll das Tumorstadium von Bronchuskarzinomzellen und von einer aus der Maus isolierten, metastatischen Zelllinie in Nacktmäusen etabliert werden. In weiterer Folge sollen das Potential dieser Zellen hinsichtlich des primären Tumorstadiums und der Metastasierungsrate untersucht werden. Nach den Tierversuchen wird das Tumorgewicht bestimmt und es werden RNA/Proteinanalysen und immunhistochemische Untersuchungen des Tumorgewebes durchgeführt. Zur Beurteilung der Metastasenbildung sollen zudem die Organe (Lymphknoten, Lunge, Leber, Niere und Hirn) entnommen und immunhistochemisch bzw. zellbiologisch auf Metastasen untersucht werden.

Die zu erwartenden Resultate sollen das Wissen um die bis dato unklare Rolle von ANGPTL-4 bei Wachstum und Metastasierung des Bronchuskarzinoms erweitern und idealerweise neue therapeutische Möglichkeiten bei der Behandlung des Bronchuskarzinoms aufzeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im vorliegenden Tierversuch werden 234 athymische Nacktmäuse verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im Sinne der „3R“ werden die Tiere für Untersuchungen für mehrere Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Es werden sowohl die Auswirkungen auf das Primärtumorstadium und die Metastasierung des Tumors untersucht. Dadurch kann der Erkenntnisgewinn aus dem Tierversuch maximiert werden und gleichzeitig die Anzahl der Versuchstiere reduziert werden.

Vermeidung: Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur *in vivo* zu beantworten sind.

Verminderung: Das verwendete Tiermodell ist ein gut etabliertes und akzeptiertes Tumormodell, das Versuche unter standardisierten Bedingungen ermöglicht, die zu einer Verminderung der Streuung der Ergebnisse führen und somit die Zahl der notwendigen Tiere reduziert. Durch die Vorkenntnisse aus mehreren anderen Tierversuchen, kann die Zahl der Tiere zusätzlich gering gehalten werden, da die bereits erhobenen Daten für den vorliegenden Versuch genutzt werden können.

Verfeinerung: Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die individuelle Streuung wird durch standardisierte Versuchsbedingungen auf ein Minimum gesenkt, der Stress der Versuchstiere wird minimal gehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30.November.2016 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Alle Interaktionen des Gehirns mit der Umwelt werden über Muskeln vollbracht. Die kleinste funktionelle Einheit des Muskels ist die motorische Einheit, bestehend aus dem Motoneuron, welches mittels motorischer Endplatten die Muskelfasern innerviert. Für die Rekonstruktion von Extremitätendefekten, die bei Kindern und Erwachsenen häufig vorkommen, sind selektive Nerventransfers essentiell. Diese wichtige Technik stellt die Muskelfunktion wieder her, ändert aber auch die Zusammensetzung der motorischen Einheit. Obwohl diese Methode seit längerem mit gutem Erfolg eingesetzt wird, wissen wir noch wenig über die Langzeiteffekte auf den Muskel. Durch eine genaue Evaluation dieser Methode können wir bestehende Therapiemodalitäten verbessern und unser noch unvollständiges Wissen über die motorische Einheit erhöhen.

Zur Untersuchung dieser Effekte wird in Ratten ein selektiver Nerventransfer unternommen und die Langzeiteffekte auf den Muskel nach verschiedenen Regenerationszeiten untersucht. Weiters werden mittels retrograder Nervenfärbungen die Effekte auf spinaler Ebene untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Anzahl Sprague Dawley: 125. Anzahl Ratten Eigenzucht: 80

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Angaben über die Erfüllung der „3R“ Die Untersuchung der motorischen Einheit, ist aufgrund ihrer Komplexität nur im lebenden Organismus möglich. Für die Evaluation der einzelnen Levels der motorischen Einheit, müssen Untersuchungen in mehreren Gruppen mit verschiedenen Techniken angewandt werden. Um die spinalen Effekte dieser Nerventransfers exakt untersuchen zu können, sind spezifische Nervenfärbungen erforderlich. Diese können nur am lebenden Organismus durchgeführt werden, da die Farbstoffe durch aktive Stoffwechselprozesse entlang der Nervenenden/-stümpfen zum Rückenmark transportiert werden müssen. Das spezifische Färbemuster im Rückenmark und den Spinalganglien erlaubt wichtige Rückschlüsse auf den Grad der Regeneration. Die einzelnen Gruppen wurden auf die minimal erforderliche Tierzahl reduziert, bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (PowerAnalysis). Standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen sollen die Streuung minimalisieren. Die operativen Eingriffe werden durch einen erfahrenen Operateur durchgeführt und erfolgen unter Vollnarkose mit postoperativer Analgesie. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerz und Wundinfektion kontrolliert, um Krankheitszeichen, Schmerzen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes der Tiere frühzeitig erkennen und ggf. behandeln zu können.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die beantragten Tierversuche dienen der Beurteilung von Medizinprodukten und ihren Bestandteilen hinsichtlich ihres Potentials, eine Irritation und eine Hautsensibilisierung hervorzurufen. Sie werden nach den Normen der „International Standardisation Organisation (ISO)“ insbesondere der **ISO-Norm 10993-10:2010** unter „Good Laboratory Practice (GLP) Bedingungen durchgeführt. Im Sinne des Tierschutzes wird auch entsprechend der ISO-Norm 10993-2:2006 gearbeitet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Nach **ISO 10993 Teil 12 (ISO 10993-12, Punkt 10.3.5)** müssen Prüfextrakte sowohl in polaren als auch in unpolaren Extraktionsmittel hergestellt werden. Entsprechend der Norm werden zur Prüfung auf Irritationen daher maximal **65 Kaninchen**, **250 Mäuse** (drei unterschiedliche Konzentrationsprüfungen, eine Blindprobe und eine positiv-Kontrolle) und maximal **150 Meerschweinchen** für den Maximierungstest beantragt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Eine Vermeidung ist nicht möglich, da die Überprüfung von Medizinprodukten hinsichtlich einer möglichen schädlichen Wirkung nach dem Medizinproduktgesetz vor Marktfreigabe im Tierversuch erfolgen muss. Eine Verminderung der Tierzahl erfolgt insofern, als im Prüfverfahren ein stufenweises Vorgehen vorgeschrieben ist:

- chemische Charakterisierung des Prüfmaterials nach ISO 10993-9/-13/-14/-15/-18
- Literaturstudie über Bewertung der chemischen und physikalischen Eigenschaften und des Irritations- und Sensibilisierungspotentials aller Bestandteile
- In-vitro Prüfungen hinsichtlich der Toxizität der Prüfsubstanzen werden – entsprechend der ISO-Norm 10993-5 - vor der Prüfung im Tiermodell durchgeführt.
- In-vivo-Tierversuche
- Klinische Studien

Eine Verfeinerung wird durch das klinische Monitoring durch erfahrenes und zertifiziertes Personal mit definierten Abbruchkriterien erreicht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Auge ist eines der wichtigsten Sinnesorgane des Menschen. Eine der häufigsten Erblindungsursachen in der westlichen Welt ist die sogenannte diabetische Retinopathie, eine häufige Folgeerscheinung der Zuckerkrankheit. Die diabetische Retinopathie ist vor allem durch Blutungen und abnorme Flüssigkeitsansammlungen im Auge gekennzeichnet, die in Folge für die Sehverschlechterung verantwortlich sind. Die genaue Entstehung dieser Erkrankung ist noch unbekannt, jedoch haben Studien gezeigt dass es bereits vor Auftreten gravierender Schäden zu Veränderungen des Blutflusses und Blutflussregulation kommt. Diese frühzeitigen Veränderungen sollen im Rahmen dieses Projekts gemessen werden und damit eine frühzeitige Diagnose ermöglicht werden. Dafür soll ein neu entwickeltes Gerät, auf optischer Kohärenztomographie basiert, getestet und verwendet werden. Der Vorteil dieser Methode liegt vor allem darin, dass diese Technik berührungslos arbeitet und Untersuchungen deshalb sehr schonend für Mensch und Tier sind. Diese Methode wird im vorliegenden Projekt zur Messung an gesunden und diabetischen verwendet. Alle Messungen finden ausschließlich unter tiefer Narkose statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für das Projekt werden **66 Ratten** (*Rattus norvegicus*) der Stämme Sprague-Dawley und Long Evans verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vor Beginn des Projekts wurden bereits in vitro Vorversuche durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Tests vermindern die Gesamtzahl der Versuchstiere. Das verwendete Verfahren im Vergleich zu anderen Methoden zur Blutflussmessung berührungslos und deshalb schonender für die Versuchstiere. Weiters haben in vitro Experimente gezeigt, dass das Verfahren eine deutlich höhere Genauigkeit aufweist, als die bisher verwendeten Methoden, was zu einer Verringerung der Fallzahlgröße führen kann.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ovarialkarzinom ist die tödlichste gynäkologische Karzinomart und die vierthäufigste krebsbezogene Todesursache von Frauen in westlichen Industrieländern. In Europa werden jedes Jahr rund 63.000 neue Fälle diagnostiziert. Ovarialkrebs ist somit eine enorme Belastung für die Gesellschaft, nicht nur durch Morbidität und Mortalität, sondern auch durch die hohen Behandlungskosten. Unsere Forschung konzentriert sich auf das Verstehen der Interaktion zwischen Karzinomzellen und dem Immunsystem. Wir sind speziell an den Natürlichen Killerzellen (NK Zellen) interessiert, welche zu den weißen Blutzellen und dem angeborenen Immunsystem gehören. NK Zellen sind dafür bekannt, dass sie eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Tumorzellen und virusinfizierten Zellen spielen. Um die Rolle von NK Zellen, die den Wirt vor der Ovarialtumorbildung in vivo schützen, zu verstehen, werden wir ein immunkompetentes Ovarialkarzinom Mausmodell verwenden, welches sowohl die frühen als auch die späten Stadien dieser Erkrankung reflektiert. Diese Arbeit wird wertvolle neue Parameter für die Erkrankungsprognose und die Beurteilung von therapeutischen Möglichkeiten liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt 640 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die unternommenen Schritte, um die Prinzipien Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung zu erfüllen:

- Das Ziel dieser Studie ist es, zu verstehen, wie NK Zellen den Wirt vor der Ovarialkarzinomentstehung schützen und wie die komplexen Interaktionen des Tumorumfeldes und den NK Zellen in vivo funktionieren. Dies ist mit einer in vitro Arbeit nicht möglich, da wir ein Modell, welches die verschiedenen Krebsstadien repräsentiert, benötigen. Wir werden ein Karzinom Mausmodell mit intaktem Immunsystem anwenden. Dieses Karzinom Mausmodell wird es ermöglichen eine immuntherapeutische Strategie für das Ovarialkarzinom im Frühstadium zu finden.
- Da das benötigte Ovarialkarzinom Mausmodell bereits zuvor etabliert wurde und wir in einer engen Kooperation mit den Autoren (Entwicklern) stehen, werden wir die geringste Anzahl an Mäusen verwenden. Durch Standardisierung der Tierhaltung und der Versuchsbedingungen werden die Streuung der Versuchsergebnisse und somit die benötigte Tierzahl reduziert. Die Anzahl der Tiere wurde durch eine Fallzahlberechnung auf das notwendige Maß minimiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens **28. Februar 2017** vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Für die Durchführung von Forschungsprojekten wird eine Vielzahl von unterschiedlichen, genetisch veränderten und/oder mutierten Fischlinien gezüchtet. Diese Tiere sind nicht immer notwendigerweise gezielt gentechnisch verändert worden, sondern können auch Ergebnis natürlicher auftretender Mutationen sein. Einige dieser Linien sind weltweit einzigartig und ein Verlust dieser Linien, z.B. durch Krankheit, würde einen ernsthaften Verlust wissenschaftlicher Ressourcen darstellen. Um einem solchen Verlust vorzubeugen ist eine Konservierung der Linien mit der Möglichkeit einer späteren Wiederbelebung absolut notwendig. Ein zweiter Grund für die Konservierung von Linien ist die Reduktion der in der Zuchtanlage gehaltenen Tiere. Linien, für die eine Möglichkeit der Wiederbelebung besteht, können in deutlich geringer Zahl gehalten werden als solche, für die diese Möglichkeit nicht gegeben ist.

Der Zweck des Projektes ist also die Sicherung von transgenen und/oder mutierten Zebrabärbling-Linien in Form von ultratiefgefrorenen Spermien und die Wiederbelebung von Linien durch in vitro Fertilisierung. Es handelt sich hierbei um eine züchterische Maßnahme, die nicht mit einem Neugewinn wissenschaftlicher Erkenntnisse verbunden ist. Das Projekt dient vielmehr der Sicherung von Ergebnissen aus vorherigen Experimenten und somit auch zur Sicherung der Basis für neue Projekte und der Reduktion von Tierzahlen in der Zuchtanlage.

Die Konservierung wird über die Gewinnung von Spermien aus adulten Männchen und einer Lagerung der Spermien in flüssigem Stickstoff bei -180°C erreicht. Für die Entnahme von Spermien werden Männchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Spermienabgabe ausgelöst. Die Spermien werden in einer Glaskapillare aufgefangen und für die Einfrierprozedur weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Spermientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern. Die Wiederherstellung von Linien erfolgt über in vitro Befruchtung von aus adulten Weibchen gewonnenen Eizellen. Für die Entnahme von Eizellen werden Weibchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Eiabgabe ausgelöst. Die Eier werden vom Tier abgestrichen und für die in vitro Fertilisierung weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Eientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern. Der Schweregrad der Gewebeentnahme ist als „gering“ einzustufen. Die Tiere bleiben nach Durchführung der Entnahme am Leben und zeigen keine Folgeschäden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Bei diesen Untersuchungen handelt es sich um züchterische Routinemaßnahmen, die für eine verantwortungsvolle Zuchtplanung unbedingt notwendig sind. Derzeit ist eine Cryo-Konservierung von 16 Linien geplant. Bei angenommenen 200 Tieren pro Linie gehen wir von **3.200 Tieren** (zusätzlich zu den bisher 7.400) in der gesamten Projektdauer aus.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

- Entnahme der Gewebeprobe erfolgt einmalig oder mit hinreichendem Erholungsabstand
- Sterile Arbeitsweise

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Projektes ist es, die Mechanismen der Informationskodierung und -Verarbeitung im Hippokampus mit hochauflösenden Patch-Clamp-Techniken zu untersuchen. Dabei wollen wir uns auf das Gyrus dentatus–CA3-Pyramidenneuron Netzwerk konzentrieren. Insbesondere soll studiert werden, mit welcher Frequenz und unter welchen Bedingungen die Neurone dieser Region Aktivität in Form von Aktionspotentialen generieren, wie sie durch vorgeschaltete Nervenzellen synaptisch aktiviert werden und wie sie eine Signaltransformation z.B. im Sinne einer Musterseparation und Mustervervollständigung vornehmen. In der publizierten Literatur gibt es bisher keine hochauflösenden intrazellulären Ableitungen von Nervenzellen im Gyrus dentatus und der CA3 Region. Andererseits ist es essentiell, diese Informationen zu gewinnen, wenn man die Funktion des Netzwerkes und seine Rolle bei Informationskodierung, Informationsverarbeitung, Lernen und Gedächtnis verstehen will.

Zu erwartender Nutzen:

Wir erwarten, dass die geplanten Experimente wesentliche neue Informationen liefern und eine bestehende Lücke im Gesamtverständnis des hippocampalen Netzwerkes schließen. Die erwarteten Ergebnisse sind für die neurowissenschaftliche Grundlagenforschung von herausragendem Interesse. Sie sind aber auch bedeutsam, um neue therapeutische Ansätze für neurologische und psychiatrische Erkrankungen zu entwickeln. Da Erkrankungen wie Epilepsie, Schlaganfall, Depression oder Schizophrenie, bei denen die Informationsverarbeitung im neuronalen Netz gestört ist, insgesamt fast 10% der Bevölkerung betreffen, haben die geplanten Untersuchungen gesellschaftliche Relevanz weit über den Horizont der Grundlagenforschung hinaus.

Zu erwartender Schaden für die Tiere:

Bei den Schwanzspitzenbiopsien für die Bestimmung des Genotyps der Jungtiere wird den Tieren eine äußerst geringe Menge Haut aus dem Bereich des Schwanzes entnommen. Mit Hilfe dieser minimalen Gewebemenge wird dann im Labor mittels einer Standardmethode (PCR) der Genotyp des jeweiligen Tieres bestimmt. Für die elektrophysiologischen Experimente an Mäusen und Ratten werden unter Vollnarkose mittels mikrochirurgischer operativer Eingriffe feine Glaselektroden im Gehirngewebe platziert. Da das Gehirngewebe nicht sensibel innerviert ist, kann die Glaselektrode im Gehirngewebe nicht zu Schmerzempfindungen führen. Hierbei werden nur minimale Verletzungen gesetzt. Ähnliche Methoden werden auch beim Menschen in der Neurochirurgie eingesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Das vorliegende Projekt besteht aus zwei Teilen, in denen über einen Zeitraum von 5 Jahren insgesamt maximal 4700 Mäuse und 50 Ratten verwendet werden.

2400 Mäuse und 50 Ratten werden insgesamt für elektrophysiologische in vivo Experimente verwendet. 2300 Mäuse werden insgesamt genotypisiert (mittels Schwanzspitzenbiopsie).

Der Schweregrad der Schwanzspitzenbiopsie ist als „gering“ einzustufen.

Der Schweregrad der elektrophysiologischen Experimente wurde als „mittel“ eingestuft.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung:

Um den oben angeführten Nutzen zu erzielen gibt es im Moment leider noch keine Ersatzmethoden. Die benötigten Erkenntnisse können ausschließlich aus der Untersuchung von lebenden Tieren gewonnen werden. Parallel zu den geplanten in vivo Experimenten werden in der Arbeitsgruppe des Antragstellers auch in vitro Experimente und Computersimulationen durchgeführt. Diese erleichtern die Planung und Interpretation der in vivo Experimente, können diese aber nicht ersetzen.

Verminderung:

Die elektrophysiologische Messung an wachen Mäusen oder Ratten ist auf kurze Zeiträume beschränkt – d.h. die Belastung der Tiere wird zeitlich auf das unbedingt notwendige Mindestmaß

beschränkt. Da es sich um ein Folgeprojekt handelt, sind die experimentellen Techniken bereits perfekt etabliert. Erkenntnisse aus dem Vorprojekt werden genutzt, um die Zahl der Tiere in diesem Projekt auf das absolut notwendige Minimum zu beschränken.

Verfeinerung:

Sowohl die Entnahme von Gewebeproben bei den Jungtieren als auch die mikrochirurgischen operativen Eingriffe erfolgen unter sterilen Bedingungen und werden ausschließlich von erfahrenen Wissenschaftlern und technischen Mitarbeitern durchgeführt.

Erkenntnisse aus dem Vorprojekt werden genutzt, um sämtliche Parameter der Experimente ständig zu optimieren.

Der Projektleiter besitzt eine einzigartige, langjährige Erfahrung bei der Entwicklung und Anwendung elektrophysiologischer Techniken (Patch-Clamp-Technik). Die experimentelle Ausbeute steigt hierdurch erheblich. Darüber hinaus ist der Projektleiter durch seine Expertise in der Lage, die Qualität der experimentellen Ableitungen zu optimieren. Die Aussagekraft einzelner Experimente steigt hierdurch wesentlich.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Ziel unsers Projekts ist mehr Verständnis über die molekularen Mechanismen hinter ASS und Epilepsie in vivo zu gewinnen. Um diese Mechanismen zu identifizieren, beabsichtigen wir Mausmodelle für Epilepsie und Autismus zu erzeugen und zu untersuchen.

Zu erwartender Nutzen: Beantwortung von essenziellen Fragen zu den grundlegenden krankmachend (pathologischen) Mechanismen dieser Erkrankung.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: es ist zu erwarten dass die neu generierten Mauslinien einen Phänotyp des zentralen Nervensystems aufweisen. D.h. wir erwarten das Auftreten von z.B. Bewegungsstörungen bei Jungtieren dieser neuen Linien. Das ist aber unverzichtbar, wenn wir unsere Annahmen real untersuchen und bestätigen wollen.

Für die Generierung dieser neuen Linien ist es notwendig, weibliche Mäuse hormonell vorzubehandeln, anschließend zu verpaaren und etwa 2 Tage nach der Verpaarung diese „Spendermütter“ human zu töten und Embryonen zu gewinnen, die mittels einer kleinen Operation in die Gebärmutter von sogenannten Ammenmüttern „transferiert“ werden. Diese Technik wird seit Jahrzehnten bei der Maus angewandt und ist daher eine gut etablierte Standardtechnik. Die so transferierten Embryonen kommen nach der normalen Tragezeit von etwa 19 Tagen auf natürlichem Weg zur Welt und werden von der Ammenmutter aufgezogen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die hier beantragte Änderung zum ursprünglichen Projektantrag melden wir einen **zusätzlichen Bedarf von 120 Tieren** an.

Insgesamt melden wir daher für den ursprünglichen Antrag und die hier beantragte Änderung einen **Bedarf von 4718 Tieren** an.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung:

Epilepsie und Autismus sind komplexe Störungen der Gehirnentwicklung. Die Komplexität dieser Erkrankung benötigt die Analyse der Gehirnentwicklung in vivo. Die Planung des Projekts umfasst umfangreiche Recherchen zur Überprüfung der zugänglichen Ressourcen hinsichtlich der Verfügbarkeit bereits vorhandener Modelle in der Maus für anstehende wissenschaftliche Fragestellungen.

Verminderung:

Das experimentelle Design wird ständig optimiert, um die Anzahl benötigter Versuchstiere auf ein absolutes Minimum zu reduzieren. Die Chimären werden mit embryonalen Stammzellen generiert die den gewünschten genetischen Hintergrund haben und uns ermöglichen an unsere Experimenttiere zu gelangen ohne Rückkreuzung.

Verfeinerung:

Wir sind beabsichtigen eine unblutige Methode für den Embryotransfer einzuführen. Dies ermöglicht den Embryotransfer von Blastozysten direkt in den Uterus ohne chirurgische Eingriffe. Die Experimente werden ausschließlich von Mitarbeitern durchgeführt die umfangreiche Expertise auf dem Gebiet mitbringen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Bei den Tierversuchen handelt es sich um Teilschritte auf dem Weg zur Entwicklung einer neuen Therapie für Sehnen- und Knorpelschäden. Diese soll auf der Anwendung des Sekretoms (Gesamtheit aller von Zellen produzierten Wachstumsfaktoren und Proteine) von mesenchymalen Stromazellen (MSC) basieren. Diese zellfreie Therapie soll eine narbenfreie Heilung von Sehnen- und Knorpelverletzungen ermöglichen. Hierzu wird das Sekretom fetaler und adulter Sehnen und Knorpel untersucht und auf seine Wirksamkeit getestet. Im Zuge der Teilschritte im Versuch kann sich dabei ein hoher Belastungsgrad für die Tiere ergeben, dem wird versucht mit allen nötigen vor- und nachsorglichen Behandlungen entgegenzuwirken.

2. Art und Anzahl der Tiere

Der Versuch wird an **120 Schafen** durchgeführt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Tiere sind an intensiven Kontakt mit Menschen gewöhnt. Für die jeweiligen Eingriffe werden immer Kleingruppen von Tieren aus ein und derselben Herde eingesetzt. Hinsichtlich Refinement erhalten die Tiere im vorgestellten Versuch eine vorsorgliche Schmerztherapie und ein innovatives und modernes Anästhesieprotokoll sowie ein Mini-Arthrotomie Technik um die Narkosedauer so gering wie möglich zu halten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens **31. Jänner 2019** vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

In den letzten Jahren ist der Bedarf an Implantaten für Osteosynthesen in der Kindertraumatologie gestiegen und mit der Entwicklung von kinderspezifischen Versorgungstechniken von Frakturen, wie der elastisch stabilen Marknagelung (ESIN), konnten Komorbiditäten drastisch reduziert werden. Die Kinder profitieren durch minimal invasiven perkutanen Zugangsweg, verminderte Schädigung des umgebenden Weichteilmantels, früher Mobilisierung und verkürzten Krankenhausaufenthalt. Diese Entwicklung endet in der Maxime mit minimalstem Aufwand den größtmöglichen Erfolg zu gewähren. Bezogen auf die Kinder bedeutet dies; möglichst wenige Operationen respektive Anästhesien, eine möglichst geringe Störung der immer stattfindenden Heilung und eine höchstmögliche Reduzierung von Komplikationen. Dies alles führt letztendlich auch zu einem ökonomischen Benefit -kurzer stationärer Aufenthalt bzw. eine schnelle Wiedereingliederung in die alltägliche Betreuungslage, um den Arbeitsausfall für betreuende Mütter und Väter zu reduzieren. Diesem Ziel könnte ein weiterer Schritt hinzugefügt werden, wenn eine erneute stationäre oder ambulante Operation zur Metallentfernung durch Verwendung eines bioresorbierbaren Implantates entfallen könnte.

zu erwartender Nutzen: In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendstes Material mit biodegradierenden Eigenschaften zur intramedullären Stabilisierung herausgestellt. Es ist gelungen erfolgreich eine Mg-Legierung herzustellen, die die notwendigen mechanischen Eigenschaften und die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt und dabei ganz ohne die Beimischung von seltenen Erden auskommt ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre.

zu erwartender Schaden: Sämtliche schmerzhaften Eingriffe bei den Versuchstieren inklusive der Tötung zur abschließenden Probenentnahme erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose. Alle Verfahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert und werden analog auch in der Behandlung von Patienten eingesetzt. In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere.

2. Art und Anzahl der Tiere

56 + 32 Bergschafe

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Replace: In vitro Untersuchungen und Zelltestungen ohne Tierversuche wurden bereits mit den genannten Materialien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei langsamer Degradation des Materials keine Zytotoxizität und gute Biokompatibilität vorhanden ist und das Material gut von den Zellen verstoffwechselt wird. Ein finaler Versuch am Großtiermodell zur kombinierten Bestätigung von in vitro und in vivo Ergebnissen der vorhergehenden Studien ist zur anschließenden Durchführung einer klinischen Studie unumgänglich.

Reduce: Zur Senkung der Tieranzahl auf ein Minimum, wurde angestrebt möglichst viele Versuche in vivo durchzuführen. Durch die nicht invasive und nicht destruktive Untersuchung mittels humanem CT bleibt das Gesamtkollektiv der Versuchstiere bis zum Ende Studienlaufzeit erhalten und erlaubt eine möglichst geringe, statistisch relevante Anzahl an Tieren.

Refine: Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen zu den Zeitpunkten der CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen an der Biomedizinischen Forschung bis zum Ende der Studie nach tierärztlichem Protokoll betreut

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen ist die Zusammensetzung der Darmflora die durch verschiedenste Parameter, so auch Ernährung oder Lebensstil beeinflusst wird. In diesem Projekt soll die positive Wirkung von bestimmten Mineralien auf diese Lebererkrankungen über die Beeinflussung der Darmflora untersucht werden. Dazu werden bereits bekannte Mausmodelle für Lebererkrankungen (insbesondere Fettleber, entzündliche Fettleber und Leberkarzinom) verwendet und die positive Wirkung dieser Mineralien, sowie der Einfluss auf die Darmflora untersucht. Herkömmliche Therapien (z. B. Fibrate, Statine) sind nur teilweise effektiv, und bergen das Risiko von teilweise schweren Nebenwirkungen. Durch das Verständnis der Wirkung dieser Mineralien wird es möglich sein, neue Behandlungs- und Präventionsmethoden rational zu entwickeln, die aufgrund der nachgewiesenen Unbedenklichkeit risikoarm einsetzbar sind. Darüber hinaus ergeben sich durch Erkenntnisse aus diesen Untersuchungen auch weitere Ansätze für die Prävention (z. B. durch begleitende Ernährungsumstellung, etc.).

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den hier durchgeführten Tierversuch werden insgesamt maximal **445 Mäuse verwendet**, sowie weitere 150 für die Zucht.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben, was aufgrund der Fragestellung (Wechselwirkung der Darmflora mit Lebererkrankungen) nur in einem intakten Organismus möglich ist.

Verminderung: Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist.

Verbesserung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.